



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO EM SEGURANÇA ALIMENTAR E SAÚDE PÚBLICA

**AVALIAÇÃO DA HIGIENE E SEGURANÇA ALIMENTAR EM
ESTABELECIMENTOS DE RESTAURAÇÃO PÚBLICA NA REGIÃO
CENTRO, TENDO POR BASE UM HISTÓRICO DE DADOS
LABORATORIAIS**

Trabalho submetido por
Filomena Alves Augusto
para a obtenção do grau de Mestre em Segurança Alimentar e Saúde Pública

Outubro de 2014



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO EM SEGURANÇA ALIMENTAR E SAÚDE PÚBLICA

AVALIAÇÃO DA HIGIENE E SEGURANÇA ALIMENTAR EM ESTABELECIMENTOS DE RESTAURAÇÃO PÚBLICA NA REGIÃO CENTRO, TENDO POR BASE UM HISTÓRICO DE DADOS LABORATORIAIS

Trabalho submetido por
Filomena Alves Augusto
para a obtenção do grau de Mestre em Segurança Alimentar e Saúde
Pública

Trabalho orientado por
Mestre Maria Isabel da Silva Santos

e coorientado por
Engenheira Laura Silva

Outubro de 2014

DEDICATÓRIA

À minha Filha, ao meu Marido e aos meus Pais e Irmãos.

AGRADECIMENTOS

A elaboração da presente Tese de Mestrado, não teria sido possível sem a colaboração e o apoio de diversas pessoas e instituições.

Assim, é com muita estima e consideração que expresso por este meio o meu sincero e profundo agradecimento, a todos os que me apoiaram e contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

À Mestre Maria Isabel da Silva Santos, Professora do Núcleo de Investigação e Formação em Qualidade e Segurança Alimentar do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, por ter aceitado ser a orientadora da minha dissertação de mestrado, pela disponibilidade, orientação e consolidação de conhecimentos, bem como pelo seu saber, empenho e cedências bibliográficas. Pela revisão e todo o trabalho desenvolvido.

À Eng.^a Laura Silva, Coordenadora do Laboratório Tomás, por ter aceitado ser minha coorientadora e também, não só pelo apoio e acompanhamento, mas também pela disponibilidade e simpatia mostradas durante o desenvolvimento deste trabalho e sobretudo pelos dados facultados.

Ao Professor Doutor Luís Proença, pela disponibilidade e trabalho desenvolvido.

Ao Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz por tudo o que proporcionou e desencadeou, para tornar possível a concretização deste trabalho.

Ao meu “lindo”, por tudo.

À minha filha, por simplesmente ter nascido.

Aos meus pais e irmãos, pelos quais sinto um enorme orgulho, pela educação dada, pelo carinho e valores transmitidos, bem como pelo incentivo, conselhos e por nunca me terem deixado desistir.

Aos meus amigos e colegas, quero agradecer toda a amizade e apoio, bem como o interesse e disposição em colaborar sempre que lhes foi solicitada ajuda.

A todos, cada um à sua maneira, vejo como um exemplo a seguir, pela vossa atitude, competência, carácter, profissionalismo e sentido de interajuda e partilha. Pelo partilhado, pelos exemplos, ensinamentos e reprimendas, que certamente se refletirão positivamente na minha carreira profissional e contribuíram para ser uma pessoa melhor.

A Todos, o meu Muito Obrigada!

RESUMO

A nova conjuntura social e económica, muito contribuiu para a criação de novos hábitos alimentares, que impulsionaram o aumento do recurso a estabelecimentos de restauração pública, quer para consumo no momento, quer para consumir fora do estabelecimento e paralelamente, o desenvolvimento de novas técnicas e metodologias de preparação e confeção de produtos. Tais inovações implicam maiores exigências e preocupações, tanto dos consumidores como das entidades oficiais, sobre a garantia e fiabilidade de segurança alimentar.

Este trabalho teve como principais objetivos avaliar, em estabelecimentos de restauração pública da zona centro, recorrendo a dados laboratoriais de 2006 a 2012, a higiene e segurança dos produtos prontos a comer, através do conhecimentos da prevalência de microrganismos patogénicos e indicadores. Pretendeu-se também verificar o cumprimento dos valores guia e da legislação aplicável.

Foram analisadas 1903 amostras pertencentes aos grupos 1, 2 e 3 indicados nos valores guia, para Microrganismos a 30 °C, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* segundo normas ISO.

Obteve-se uma mediana para Microrganismos a 30 °C de 2,75 log ufc/g, 4,13 log ufc/g e 5,42 log ufc/g nos produtos dos grupos 1, 2 e 3 respetivamente. Para *E. coli* as contagens variaram entre <1 e 4,15 log ufc/g e para Microrganismos a 30 °C entre 1,00 e 8,53 log ufc/g. Quanto aos patogénicos, 1 amostra apresentou *Salmonella* spp. (0,1%), 9 *L. monocytogenes* (1,4%) e 2 revelaram uma contagem >4 log ufc/g para *Staphylococcus* (0,1%). Relativamente à qualificação global das amostras apenas 0,63% se revelaram inaceitáveis e 22,65% não satisfatórias.

Como conclusão salienta-se o facto da prevalência de microrganismos patogénicos ser bastante baixa. Os resultados indicam que estão a ser assegurados alguns parâmetros de HSA. Relativamente à legislação verificou-se que 9 amostras com presença de *L. monocytogenes* e 1 com *Salmonella* spp., não cumpriam o Regulamento 1441.

Palavras-Chave: Higiene e Segurança Alimentar; Restauração Pública; Dados Laboratoriais; Valores guia.

ABSTRACT

The new social and economic status contributes for the creation of new food habits that impulses the increased use of public catering establishments either for immediate consumption or for off-premises consumption and, in parallel, the development of new techniques and methods of preparation and confection products. Such innovation implicates a bigger requirement and more concerns for consumers as well as official authorities about food safety assurance.

This work's main purpose was to evaluate the hygiene and food safety through the knowledge of pathogens microorganisms and indicators prevalence for ready to eat products in restaurants of Portugal central region. The laboratory results we used are from 2006 to 2012. It is also intended to verify compliance with the applicable guide lines and legislation.

1903 samples were analysed belonging to groups 1, 2 and 3 indicated in the guide lines for Microorganism at 30 °C, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in accordance with ISO methods.

We obtained a median for Microorganisms at 30 °C of 2,75 log cfu/g, 4,13 log cfu/g and 5,42 log cfu/g of groups 1, 2 and 3 respectively. For *E. coli* counts results varies between <1 and 4,15 log cfu/g and for Microorganisms at 30 °C between 1,00 and 8,53 log cfu/g. As for the pathogens, 1 sample presented *Salmonella* spp. (0,1%), 9 *L. monocytogenes* (1,4%) and 2 revealed a count >4 log cfu/g for *Staphylococcus* (0,1%). In what concerns the global qualification of samples only 6,63% revealed non acceptable and 22,65% not satisfactory.

Concluding it stands out the fact that the prevalence of pathogenic microorganisms was very low. The results indicate that some parameters of food safety are being ensured. In relation with compliance with legislation, 9 samples with *L. monocytogenes* and 1 with *Salmonella* spp. did not meet 1441 Regulation requirements.

Key words: Hygiene and food safety; Public catering establishments; laboratory results; Guide lines.

ÍNDICE

DEDICATÓRIA	2
AGRADECIMENTOS.....	3
RESUMO.....	4
ABSTRACT.....	5
ÍNDICE DE FIGURAS	8
ÍNDICE DE TABELAS.....	10
LISTA DE ABREVIATURAS.....	11
I. INTRODUÇÃO.....	13
1. Enquadramento Teórico e Objetivos do Trabalho.....	13
2. Higiene e Segurança Alimentar.....	15
2.1. Evolução do Conceito de Higiene e Segurança Alimentar.....	15
2.2. A importância da <i>Codex Alimentarius Commission</i> para a Higiene e Segurança Alimentar.....	17
2.3. Livro Branco sobre a Segurança dos Alimentos.....	19
2.3.1. Princípio da Precaução.....	20
2.4. Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos.....	21
2.5. Legislação Alimentar e “Pacote de Higiene” dos Géneros Alimentícios....	21
2.6. Autoridade de Segurança Alimentar e Económica.....	24
3. Perigos Alimentares.....	24
4. Doenças de Origem Alimentar.....	27
4.1. Microrganismos nos Alimentos.....	31
4.1.1. <i>Listeria monocytogenes</i>	31
4.1.2. <i>Salmonella</i> spp.....	32
4.1.3. <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	33
4.1.4. <i>Escherichia coli</i>	34
4.1.5. Microrganismos a 30°C.....	36
5. Sistema <i>Hazard Analysis and Critical Control Points</i>	36
5.1. Conceito do sistema <i>Hazard Analysis and Critical Control Points</i>	36
5.2. Origem do sistema <i>Hazard Analysis and Critical Control Points</i>	37
5.3. A importância do sistema <i>Hazard Analysis and Critical Control Point</i> para os estabelecimentos de restauração pública.....	38
5.4. Os 7 Princípios do sistema <i>Hazard Analysis and Critical Control Points</i> ..	39

5.5. Metodologia de aplicação prática do sistema <i>Hazard Analysis and Critical Control Points</i>	39
5.6. Benefícios do sistema <i>Hazard Analysis and Critical Control Point</i>	43
6. Pré-requisitos de Higiene e Segurança Alimentar ao sistema <i>Hazard Analysis and Critical Control Points</i>	43
7. Análises Microbiológicas em alimentos prontos a comer.....	52
II. MATERIAIS E MÉTODOS	55
1. Amostras.....	55
2. Análises Microbiológicas.....	56
2.1. Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	56
2.2. Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.....	57
2.3. Quantificação de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	58
2.4. Quantificação de <i>Escherichia coli</i>	59
2.5. Quantificação de Microrganismos a 30°C.....	59
3. Análise e Tratamento de dados.....	60
III. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61
1. Apresentação e Discussão dos Resultados das Análises Microbiológicas.....	61
1.1. Microrganismos Patogénicos.....	63
1.1.1. Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	63
1.1.2. Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.....	66
1.1.3. Quantificação de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	69
1.2. Microrganismos Indicadores de Qualidade e Higiene Alimentar.....	73
1.2.1. <i>Escherichia coli</i>	73
1.2.2. Quantificação de Microrganismos a 30°C.....	76
1.2.3. Classificação das amostras perante os Valores guia.....	81
IV. CONCLUSÕES.....	82
V. BIBLIOGRAFIA.....	84
ANEXOS	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Evolução da venda de espinafres nos Estados Unidos (Fonte: Pezzini, 2006)	17
Figura 2: Diferenciação de perigos não significativos e significativos, e decisão sobre o respetivo controlo, através de pré-requisitos ou do plano HACCP (Fonte: Bolton e Maunsell, 2004).....	27
Figura 3: A sequência e a interação das 12 etapas da metodologia do sistema HACCP (Fonte: Baptista et al., 2003).....	42
Figura 4: Colónia característica de <i>Listeria monocytogenes</i> (Fonte: Santos, 2009).....	56
Figura 5: Frequência do número de amostras processadas, em cada ano de estudo.....	61
Figura 6: Evolução do número de amostras, ao longo dos anos.....	62
Figura 7: Frequência do número de amostras processadas, por grupo de alimentos.....	63
Figura 8: Número de amostras e distribuição por grupos nas quais foi efetuada a pesquisa de <i>L. monocytogenes</i>	63
Figura 9: Resultados da pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	64
Figura 10: Frequência dos resultados da pesquisa de <i>L. monocytogenes</i> , em cada grupo de alimento.....	65
Figura 11: Incidência temporal dos casos positivos obtidos na pesquisa a <i>L.</i> <i>monocytogenes</i> , em cada grupo de alimento.....	65
Figura 12: Número de amostras e distribuição por grupos nas quais foi efetuada a pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.....	67
Figura 13: Resultados da pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.....	67
Figura 14: Frequência dos resultados da pesquisa a <i>Salmonella</i> spp., em cada grupo de alimento.....	68
Figura 15: Incidência dos casos positivos de <i>Salmonella</i> spp., por grupo de alimento...68	
Figura 16: Frequência dos resultados da quantificação de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	70
Figura 17: Frequência dos resultados da quantificação de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva, por grupo de alimento.....	70
Figura 18: Incidência temporal da qualificação das amostras para a quantificação de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva, em cada grupo de alimento.....	71
Figura 19: Diagrama de extremos e quartis de log para <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva, por grupo de alimento.....	72

Figura 20: Frequência dos resultados da quantificação de <i>Escherichia coli</i>	73
Figura 21: Frequência dos resultados da quantificação de <i>Escherichia coli</i> , por grupo de alimento.....	74
Figura 22: Incidência temporal da qualificação das amostras para a quantificação de <i>E. coli</i> , em cada grupo de alimento.....	75
Figura 23: Diagrama de extremos e quartis de log para <i>E. coli</i> , por grupo de alimento.....	76
Figura 24: Frequência dos resultados da quantificação de Microrganismos a 30°C.....	77
Figura 25: Frequência dos resultados da quantificação de Microrganismos a 30°C, por grupo de alimento.....	78
Figura 26: Incidência temporal da qualificação das amostras para a quantificação de Microrganismos a 30°C, em cada grupo de alimento.....	78
Figura 27: Diagrama de extremos e quartis de log para Microrganismos a 30°C, por grupo de alimento.....	80
Figura 28: Classificação global das amostras.....	81

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: "Pacote Higiene" - Pacote legislativo criado em 2004.....	22
Tabela 2: Perigos Alimentares (apresentação de alguns exemplos).....	26
Tabela 3: Surtos ocorridos na UE de 2005-2012 e percentagem de ocorrência em restauração pública (Fonte: EFSA, 2007a a 2014).....	29
Tabela 4: Surtos e agentes etiológicos em 2008-2011: dados do INSA* (Fonte: Correia et al, 2013).....	30
Tabela 5: Os 7 Princípios do sistema HACCP.....	40
Tabela 6: As 14 Etapas de implementação do sistema HACCP.....	41
Tabela 7: Pré-requisitos ao sistema HACCP.....	45
Tabela 8: Níveis de “Qualidade Microbiológica de alimentos cozinhados prontos a comer” (Fonte: Santos et al., 2005).....	53
Tabela 9: Grupos de alimentos prontos a comer (Fonte: Santos et al., 2005).....	54
Tabela 10: Quantidade de análises realizadas, em cada Ano.....	55
Tabela 11: Quantidade de análises realizadas, em cada Grupo.....	55
Tabela 12: Incidência da quantificação de Microrganismos a 30°C, em cada grupo de alimento, por ano (Nº/%).....	79

LISTA DE ABREVIATURAS

APT - *Buffer Peptone Water*

ARESP - Associação da Restauração e Similares de Portugal

ASAE - Autoridade de Segurança Alimentar e Económica

BCIG - ácido 5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-glucurónico

BP - *Baird-Parker*

BHI - *Brain-Heart Infusion*

BPF - Boas Práticas de Fabrico

BPH - Boas Práticas de Higiene

BSE - *Bovine Spongiform Encephalopathy*

CAC - *Codex Alimentarius Commission*

CAC/RCP1-1 - *Recommended International Code of Practice – General Principles of Food Hygiene*

CDC - *Centers for Disease Control*

CE - Comissão Europeia

CEE - Comunidade Económica Europeia

COS - *Columbia Agar com 5 % Sheep Blood*

DAEC - *E. coli* difusamente aderente

DGAV - Direção Geral da Alimentação e Veterinária

DOA - Doença de Origem Animal

DRAPC - Direção Regional da Agricultura e Pescas do Centro

EAEC - *E. coli* enteroagregativa

EFSA - *European Authority for Food Safety*

EHEC - estirpes enterohemorrágicas

EIEC - *E. coli* enteroinvasiva

EM - Estados Membros

EPEC - *E. coli* enteropatogénica

ESB-UCP - Escola Superior de Biotecnologia - Universidade Católica Portuguesa

ETEC - *E. coli* enterotoxinogénica

EUA - Estados Unidos da América

FAO - *Food and Agriculture Organization*

FIPA - Federação das Indústrias Portuguesas Alimentares

FIFO - *First In, First Out*

FDA - *Food and Drug Administration*
FMEA - *Failure, Mode and Effects Analysis*
FSAI - *Food Safety Authority of Ireland*
FSIS - *Food Safety Inspection Service*
GA - Género Alimentício
HACCP - *Hazard Analysis and Critical Control Point*
HSA - Higiene e Segurança Alimentar
ICMSF - *International Commission on Microbiological Specification for Foods*
INSA - Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge
IPAC – Instituto Português de Acreditação
ISO - *International Organization for Standardization*
MA - Ministério da Agricultura
MKTT - *Muller-Kauffmann* com tetracionato e novobiocina
NA - Nutriente Agar
NASA - *National Aeronautics and Space Administration*
NP - Norma Portuguesa
OE - Objetos Estranhos
OGM - Organismo Genéticamente Modificado
OMS - Organização Mundial da Saúde
PCA - *Plate Counte Agar*
PCC - Ponto Crítico de Controlo
PCC's - Pontos Críticos de Controlo
RVS - *Rappaport Vassiliadis Soja*
SA - Segurança Alimentar
TBX - *Tryptone Bile XGlucuronide*
TSA - *Tryptone Soya Agar*
TSI - *Triple Sugar Iron*
UE - União Europeia
UHT – Ultrapasteurização
VTEC/STEC - E. coli verotoxinogénica
XLD - Xylose Lysine Deoxycholate
WHO - World Health Organization (Organização Mundial de Saúde)
WTO - World Trade Organization

I. INTRODUÇÃO

1. Enquadramento Teórico e Objetivos do Trabalho

Nos últimos anos, diversos fatores, tanto económicos como socioculturais, determinaram alterações substanciais nos hábitos alimentares da população, tendo os conceitos e as formas de restauração evoluído, moldando-se ao desenvolvimento da sociedade. Esta evolução, conjugada com as crescentes exigências e preocupações dos consumidores e entidades oficiais, exige uma cada vez maior atenção por parte das empresas do sector, para com as questões relacionadas com a segurança alimentar (SA). Deste modo, a higiene e segurança alimentar (HSA) são exigências da atualidade, em qualquer serviço que envolva o fornecimento de alimentos, cabendo-lhes salvaguardá-las ao longo de todo o percurso feito pelos géneros alimentícios (GA), até chegarem ao consumidor final.

A SA adquiriu uma importância global nas últimas décadas, isto porque se tem verificado um aumento das doenças de origem alimentar (DOA) em todo o mundo (World Health Organization [WHO], 2009).

O impacto económico destas situações, tem atingido proporções alarmantes, sendo de grande montante os custos relacionados com as perdas que ocorrem ao nível das empresas alimentares, quase sempre superiores às despesas médicas e de hospitalização dos doentes.

Como locais de ocorrência de um maior número de incidentes, ressaltam os estabelecimentos de restauração, pelo facto de o número elevado de refeições que preparam aumentar a probabilidade de contaminações cruzadas, além de que muitas preparações são efetuadas com muita antecedência, permitindo, face ao elevado espaço de tempo que decorre entre a preparação e o consumo, a multiplicação microbiana.

Esta é uma preocupação partilhada ao nível dos Estados Membros (EM) da União Europeia (UE). Deste modo, a partir do dia 01 de janeiro de 2006, entrou em vigor todo um novo pacote legislativo para o sector alimentar, em particular, no que diz respeito aos procedimentos com vista à salvaguarda da saúde pública, através da obrigatória observância de requisitos de HSA.

A implementação da HSA é o principal caminho a seguir pelos operadores do sector alimentar, que pretendam dar continuidade à sua atividade de forma credível no mercado. Garantir um elevado nível de proteção da saúde pública é um dos objetivos

fundamentais da legislação alimentar em vigor, nomeadamente do Regulamento (CE) nº 852/2004, do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de abril de 2004, relativo à higiene dos GA, o qual defende a aplicação geral de procedimentos baseados nos princípios do sistema *Hazard Analysis and Critical Control Points* (HACCP) – Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo. A prevenção das DOA passa, fundamentalmente, pela implementação ao longo de toda a cadeia alimentar de sistemas preventivos, como o HACCP. As empresas do sector alimentar devem, por conseguinte, aplicar os princípios deste sistema, de modo a garantirem a segurança dos alimentos que preparam e facultam ao consumidor final.

É neste enquadramento que a presente Dissertação de Mestrado, em Segurança Alimentar e Saúde Pública, se vai desenvolver.

Neste sentido, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar a HSA em estabelecimentos de restauração pública na região centro, tendo por base um histórico de dados laboratoriais, referentes a produtos prontos a comer, reunidos entre o ano de 2006 e o ano de 2012.

Os objetivos específicos do estudo consistiram em:

- (1) Avaliar a prevalência dos patogénicos mais frequentes neste tipo de produtos: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva ao longo de 7 anos, tendo em conta a classe do produto;
- (2) Verificar a frequência e os níveis dos indicadores de higiene *Escherichia coli*, e Microrganismos a 30°C, no mesmo período de tempo e associar com as práticas de HSA;
- (3) Avaliar a qualidade microbiológica de pratos cozinhados e outros alimentos prontos a comer preparados nos estabelecimentos objeto do estudo, com base nos valores guia aplicáveis ao sector;
- (4) Verificar se existe relação entre os resultados analíticos e o cumprimento ou incumprimento de imposições legais (nos casos aplicáveis).

2. Higiene e Segurança Alimentar

2.1. Evolução do Conceito de Higiene e Segurança Alimentar

A HSA há muito tempo que é uma questão importante para a sociedade. Desde a Pré-História e até aos nossos dias, ter acesso a alimentos seguros foi sempre uma das principais preocupações do Homem (Federação das Indústrias Portuguesas Alimentares [FIPA], 2001).

Numa fase primária, a SA baseava-se apenas na distinção entre alimentos comestíveis e não comestíveis. Hoje, o conceito de SA é compreendido como “garantia que um alimento não causará qualquer dano ao consumidor, através de perigos biológicos, químicos ou físicos, quando é preparado e ou consumido de acordo com o uso esperado” (Araújo, 2007).

O aparecimento do fogo, a distinção de plantas e cogumelos venenosos, e a aprendizagem esporádica de práticas que podiam limitar a alteração dos alimentos, como a salmoura e a secagem, foram os primeiros passos da SA, isto é, a aplicação de práticas que visam promover a ingestão de alimentos cada vez mais inofensivos para a saúde (Jay, Loessner & Golden, 2005).

Os séculos XVIII, XIX e XX, em consequência da Revolução Industrial e alterações sociais subsequentes, viriam a ser épocas de grande evolução para a SA. Observou-se a ocorrência de alterações socioeconómicas, que impulsionaram novos hábitos alimentares da população. O êxodo rural, a entrada da mulher no mercado de trabalho e, como consequência, a redução da disponibilidade para fazer compras e preparar refeições, refletiram-se num aumento do consumo de alimentos prontos a comer ou de preparação rápida. Estas alterações criaram a necessidade crescente de tomar refeições fora de casa e consequentemente, tiveram início produções intensivas para satisfazer as captações dos grandes centros urbanos, surgindo também a necessidade de garantir tempos de prateleira mais alargados (Baptista & Linhares, 2005; Raymundo, 2013).

Assim, surgiram novos desafios para o sector alimentar. A necessidade de ter à disposição dos consumidores produtos mais rápidos, mais fáceis e mais económicos, como pré-preparados, pré-confecionados, ou cozinhados prontos a comer ou para levar para casa, promoveu avanços significativos ao nível da tecnologia alimentar (Moreira & Padrão, 2004; Santos & Cunha, 2007; Viana, Santos & Guimarães, 2008).

Porém, esta evolução, que implica naturalmente transformações, por sua vez, compromete e por vezes fragiliza os pressupostos de SA, tomando-se motivo de preocupação e necessária atuação ao nível da saúde pública (Lopes, 2005; WHO, 2009). Como consequência, problemas relacionados com a SA adquiriram uma importância global nestas mesmas últimas décadas, tendo-se verificado um aumento das DOA causadas pela ingestão de alimentos contaminados com microrganismos patogénicos e/ou suas toxinas. Estas situações constituem um dos maiores problemas em saúde pública, tanto em países em desenvolvimento, como nos países desenvolvidos (Novais, Santos & Correia, 2004; Organização Mundial de Saúde [OMS], 2006; WHO, 2014). O final do Século XX foi rico nas ditas “crises” ou “temores” alimentares as quais tiveram grande impacto no sector alimentar humano e animal. Entre as situações mais alarmantes podem lembrar-se a *Bovine Spongiform Encephalopathy* (BSE) - Encefalopatia Espongiforme Bovina, mais popularmente designada de *doença das vacas loucas*, a Febre Aftosa, em 2003 os problemas levantados pela presença dos nitrofuranos em Portugal, a Gripe Aviária (vírus H5N1), bem como situações de Salmoneloses e de Listerioses, das Dioxinas e a importação de soja geneticamente modificada (Halkier & Holm, 2006; Escola Superior de Biotecnologia- Universidade Católica Portuguesa [ESB-UCP], 2010). Nas situações referidas foi observada a ocorrência de danos severos sobre a saúde dos consumidores, colocando em causa a saúde pública e tendo-se verificado mesmo uma grande perda de vidas humanas. Para além disso, há ainda a considerar os elevados custos e as perdas económicas para as empresas do sector alimentar. Estes custos foram devidos ao fecho temporário da atividade por parte das autoridades competentes, tendo ficado associada uma imagem depreciativa do estabelecimento e do serviço, que em muitos casos, dificilmente é recuperável, impulsionando um enorme impacto socioeconómico (Zanussi Professional, s.d.).

A título de exemplo, apresenta-se na figura 1, uma situação ocorrida nos Estados Unidos (EU) relativa á quebra de venda de espinafres, após um surto que envolveu 205 pessoas das quais 3 faleceram devido a contaminação por *Escherichia coli* O157:H7.

Concomitantemente, a partir da década de 40 do século XX, a ciência e tecnologias relativas a alimentos sofre um rápido progresso. Com o aparecimento de instrumentos analíticos mais sensíveis, o conhecimento sobre a natureza, a qualidade e riscos associados aos alimentos também cresceu rapidamente. Artigos sobre os alimentos e riscos para a saúde foram publicados e consumidores acabaram por tomar conhecimento

dos mesmos em revistas populares e pela imprensa (Codex Alimentarius Commission [CAC], 2003).

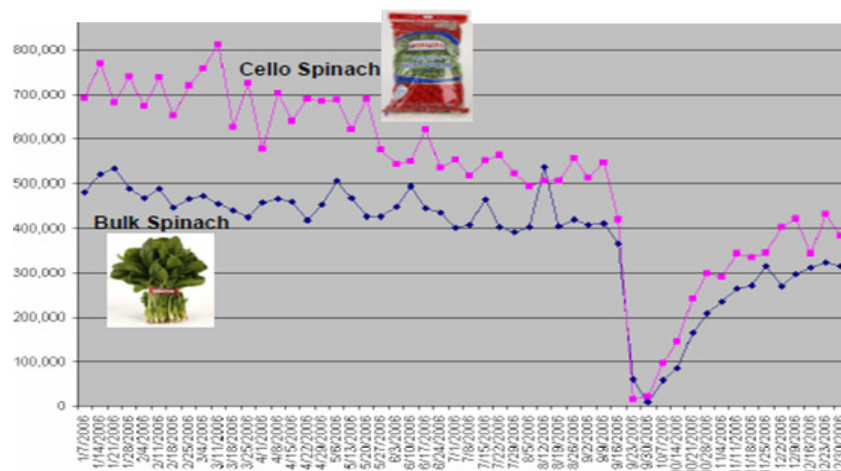


Figura 1: Evolução da venda de espinafres nos Estados Unidos (Fonte: Pezzini, 2006).

Todos estes acontecimentos vieram levantar novas questões sobre a integração e harmonização de procedimentos de segurança e qualidade, na produção e no processamento de alimento, tendo sido também responsáveis por fragilizar e abalar a segurança e a confiança dos consumidores, quer dos EM quer dos importadores de GA do mercado europeu, tendo como consequência pressões sem precedentes e a exposição das suas deficiências (Halkier & Holm, 2006; ESB-UCP, 2010).

Perante tal cenário, os EM sentiram a necessidade de criar estratégias que assegurassem que apenas alimentos seguros fossem colocados no mercado europeu, tendo sido impulsionada uma crescente e forte atuação dos controlos necessários para assegurar a observância de normas de SA aceitáveis (Comissão das Comunidades Europeias [CCE], 2000).

Tal como na Europa, a nível mundial, também existe preocupação com a SA, levando à criação em 1963 da *Codex Alimentarius Commission* (CAC) estabelecida pela *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) da WHO (CAC, 2003).

2.2. A Importância da *Codex Alimentarius Commission* para a Higiene e Segurança Alimentar

A CAC tem como principal missão a proteção da saúde do consumidor e foi criada com o intuito de assegurar práticas comerciais justas na área alimentar e promover a coordenação de todas as normas e diretrizes alimentares, tais como os códigos de boas

práticas, realizadas por organizações internacionais governamentais e não-governamentais. Acaba por tornar-se a referência internacional mais importante para o desenvolvimento deste tipo de documentos. Os membros da CAC incluem os EM da FAO e da WHO (CAC, 2003).

A CAC desde 1969 já publicou aproximadamente 50 códigos de boas práticas, sendo o primeiro o *Recommended International Code of Practice – General Principles of Food Hygiene* - CAC/RCP1-1 (Código Internacional de Práticas Recomendadas - Princípios Gerais de Higiene Alimentar), o qual ainda hoje é a referência internacional em princípios de HSA (Baptista, Pinheiro & Alves, 2003; CAC, 2003).

O CAC/RCP1-1 refere que todos os intervenientes da cadeia alimentar, desde a produção primária ao consumidor final, têm a responsabilidade de garantir que os alimentos são seguros e adequados ao consumo (CAC, 2003):

Este documento é reconhecido internacionalmente como uma referência base para a legislação europeia em HSA e tem como princípios gerais:

- Proteger os consumidores de doenças ou lesões causadas por alimentos;
- Garantir que os alimentos são adequados ao consumo humano;
- Manter a confiança nos alimentos comercializados internacionalmente;
- Criar programas de educação sanitária que transmitam eficazmente os princípios da higiene alimentar à indústria e aos consumidores.

O CAC/RCP1-1 define boas práticas para produção, processamento, fabrico, transporte e armazenamento para alimentos individuais ou grupo de alimentos. Este código é considerado essencial para garantir a segurança e adequação dos alimentos para consumo. Para além disso, este código indica o programa de pré-requisitos para a implementação de um sistema HACCP, que assegura as condições operacionais e ambientais básicas, necessárias para a produção de alimentos inócuos. Assim o sistema HACCP deve ser implementado sobre uma base sólida de cumprimento de pré-requisitos, tais como os incluídos no âmbito das Boas Práticas de Fabrico (BPF), dos Procedimentos Padrão de Higiene Operacional e das Boas Práticas de Higiene (BPH), que cobrem muitos aspetos operacionais de instalações e pessoal (Baptista et al., 2003). Este código acabou por sofrer três revisões e em 1999, foi-lhe incorporado em anexo, a descrição da metodologia HACCP. Com base na última versão do CAC/RCP1-1 é possível enumerar como objetivos dos Princípios Gerais de HSA (CAC, 2003):

- A identificação dos princípios básicos de higiene alimentar aplicáveis a toda a cadeia alimentar, de forma a garantir o fornecimento de alimentos seguros e inócuos ao consumidor final;
- A recomendação de uma abordagem baseada no sistema HACCP como um meio de aumentar a SA;
- A disponibilização de orientações para códigos específicos, que podem ser necessários em determinados sectores de atividade da cadeia alimentar, processos ou produtos.

2.3. Livro Branco sobre a Segurança dos Alimentos

As preocupações com a SA por parte da Comissão Europeia (CE) atrás referidas, conduziram a diversas ações no sentido de ganhar a confiança dos consumidores e garantir a saúde das populações. Assim, em abril de 1997, tornou-se evidente uma abordagem global e integrada da SA, quando a CE publicou um documento de reflexão, com um conjunto de ideias para análise e debate público sobre os princípios gerais da legislação alimentar da UE, o Livro Verde, o qual constituiu o ponto de partida para uma ampla reflexão sobre a legislação em vigor e as suas possíveis melhorias. E em janeiro de 2000, foram publicados os resultados desse processo de consulta e debate, sendo apresentadas propostas de ação comunitária em matéria de SA no Livro Branco sobre segurança dos alimentos (Barbeira, 2007; Regulamento 852, 2004).

Este documento inclui como medidas essenciais, a constituição de uma Autoridade Alimentar Europeia independente, um quadro jurídico melhorado, sistemas de controlo mais harmonizados a nível nacional e um diálogo com os consumidores e os outros interessados e no qual foram formulados os princípios gerais sobre os quais deve assentar a política europeia em matéria de SA (CCE, 2000). Sublinha ainda, a necessidade de uma política assente numa base científica sólida e numa legislação modernizada, de forma a restabelecer a confiança pública no fornecimento de alimentos, nas suas ciências, leis e controlos alimentares. Visto que a cadeia alimentar se está a tornar extremamente complexa, a saúde dos consumidores só pode ser devidamente protegida se cada elo da cadeia for tão forte quanto os outros (Ministério da Agricultura [MA], 2011).

Assim, a reformulação da legislação comunitária teve como objetivo a criação de uma política de SA assente no princípio da precaução, visando assegurar o controlo, a cada

segmento, de toda a cadeia alimentar e restaurar a confiança dos consumidores, associando o conjunto das partes interessadas: o grande público, organizações não-governamentais, associações profissionais, parceiros comerciais e organizações do comércio internacional (Halkier & Holm, 2006).

2.3.1. Princípio da Precaução

O princípio de precaução estabelece a necessidade de implementação de ações de proteção prévias, quando existem lacunas no que respeita à existência de provas científicas de um determinado risco para a saúde humana ou animal. Este princípio procura alterar as políticas e estratégias de reação para políticas de precaução, impedindo a distribuição ou mesmo a retirada do mercado, de produtos suscetíveis de representarem perigo para a saúde humana. Os seus componentes centrais estão na íntegra, relacionados com a saúde pública e assentam em 4 pontos essenciais (WHO, 2003; World Trade Organization [WTO], 2011):

- Atuar preventivamente face à incerteza;
- Responsabilizar os operadores das empresas do sector alimentar;
- Explorar um largo espectro de alternativas a possíveis ações prejudiciais;
- Incrementar a participação pública na tomada de decisão.

Esta abordagem encontra-se incorporada em diversos acordos internacionais e já se considera assumido como um princípio básico (WHO, 2003; WTO, 2011).

De acordo com o Regulamento (CE) nº 178/2002, de modo a determinar se um GA é perigoso são considerados alguns parâmetros, tais como:

- As condições normais de utilização;
- O provável efeito imediato ou posterior sobre a saúde;
- A informação prestada ao consumidor;
- Os efeitos tóxicos cumulativos;
- Sensibilidades sanitárias específicas de uma determinada categoria de consumidores.

Sempre que se considere que um GA é prejudicial à saúde, assume-se que a totalidade do lote ou da remessa desse mesmo GA é igualmente perigoso. O mesmo acontece com

os alimentos para animais, uma vez que se considera que se um GA é prejudicial à saúde humana, o mesmo não poderá ser dado nem comercializado a animais produtores de GA.

2.4. Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos

Em 2002, como consequência da publicação do referido Livro Branco, após revisão dos princípios gerais da legislação alimentar, bem como dos procedimentos relativos à segurança dos GA e alimentos para animais, foi elaborada a legislação que cria a *European Food Safety Authority* (EFSA) - Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos, que estabelece os princípios gerais e os controlos harmonizados (Regulamento 178, 2002).

A EFSA foi criada como fonte independente de aconselhamento científico e de comunicação sobre os riscos associados à cadeia alimentar, com o objetivo de garantir a SA da UE e de assegurar a proteção dos consumidores, restaurando e mantendo a confiança no abastecimento de alimentos no espaço europeu.

A EFSA avalia todos os riscos associados à cadeia alimentar e faculta toda a análise necessária à Comissão, que decidirá da resposta a aplicar (CCE, 2000).

Esta entidade possui como objetivo, tornar-se reconhecida mundialmente como o corpo europeu de referência para avaliação de riscos em alimentos e SA, saúde animal, bem-estar, nutrição, proteção e saúde das plantas. É graças a este sistema, que os consumidores europeus estão entre os mais protegidos e bem informados, em relação aos riscos associados à cadeia alimentar (EFSA, 2011).

2.5. Legislação Alimentar e “Pacote de Higiene” dos Géneros Alimentícios

Em 2002 são revistos os principais princípios gerais da legislação alimentar (incluídos na Diretiva n.º 93/43/CEE), bem como procedimentos relativos à segurança dos GA, que se aplicam igualmente aos alimentos para animais. Como principal objetivo busca a livre circulação, sendo garantido um elevado nível de proteção da saúde humana e animal, através do cumprimento dos princípios e requisitos gerais da legislação comunitária e controlos independentes em toda a cadeia alimentar (Barbeira, 2007).

Surge assim o Regulamento (CE) n.º 178/2002 que prevê os fundamentos para garantir um elevado nível de proteção da saúde humana e dos interesses dos consumidores em relação aos GA, tendo em conta a diversidade da oferta, incluindo produtos tradicionais,

e assegurando, ao mesmo tempo, o funcionamento eficaz do mercado interno. Estabelece princípios e responsabilidades comuns, a maneira de assegurar uma sólida base científica e disposições e procedimentos organizacionais eficientes, para servir de base à tomada de decisões em questões de segurança dos GA e dos alimentos para animais.

Foi após a entrada em vigor deste regulamento, que os operadores das empresas do sector alimentar se tornaram os responsáveis pela segurança dos GA que produzem e que fornecem. Deste modo, o controlo e o acompanhamento passaram a aplicar-se a todas as fases da produção, transformação e distribuição de GA e de alimentos para animais, ao longo de toda a cadeia alimentar, “do prado ao prato” (Regulamento 178, 2002).

Passados dois anos, com vista a reforçar a proteção da saúde humana e o consequente grau de confiança dos consumidores, a UE revoga a Diretiva nº 93/43/CEE e esta é substituída por um pacote de regulamentos legislativos, que veio reestruturar e atualizar as normas contidas em várias diretizes criadas entre 1964 e 1994. Assim, nasce em 2004, o denominado “Pacote Higiene”, constituído por um conjunto de atos que instituem regras de higiene para os GA e entrados em vigor em 01 de janeiro de 2006. Deste modo, foram instituídos aproximadamente dois anos para a sua aplicação, de modo a permitir às empresas do sector alimentar conhecerem e adaptarem-se às novas regras do Pacote legislativo (Food Safety Authority of Ireland [FSAI], 2012).

A tabela 1 identifica os três Regulamentos do Parlamento Europeu e do Conselho, que constituem o “Pacote Higiene”, bem como o seu propósito.

Tabela 1: "Pacote Higiene" - Pacote legislativo criado em 2004

Regulamento	Regras estabelecidas
Regulamento (CE) n.º 852/2004, de 19 de abril de 2004	Regras gerais destinadas aos operadores das empresas do sector alimentar, no que se refere à higiene dos GA
Regulamento (CE) n.º 853/2004, de 19 de abril de 2004	Regras específicas para os operadores das empresas do sector alimentar, no que se refere à higiene dos GA de origem animal, complementando as previstas no regulamento n.º 852/04
Regulamento (CE) n.º 854/2004, de 19 de abril de 2004	Regras específicas de organização dos controlos oficiais de produtos de origem animal, aplicando-se portanto, apenas às atividades e pessoas abrangidas pelo âmbito do regulamento n.º 853/04

Além disso, de modo a completar a legislação comunitária em matéria de higiene dos GA, recorre-se também aos seguintes atos:

- Regulamento (CE) n.º 882/2004, que reorganiza os controlos oficiais dos GA e dos alimentos para animais, de maneira a integrar os controlos em todas as etapas da produção e em todos os sectores;
- Diretiva 2002/99/CE, que estabelece as condições para a colocação no mercado dos produtos de origem animal e as restrições aplicáveis aos produtos provenientes de países ou de regiões terceiros, sujeitos a restrições de polícia sanitária.

Entre todos, a destacar o Regulamento (CE) n.º 852/2004, do Parlamento Europeu e do Conselho, relativo à higiene dos GA, que é uma das leis bases de adoção por todas as empresas do ramo alimentar em Portugal. Este regulamento que substitui a Diretiva 93/43/CEE de 14 de junho, estabelece princípios, requisitos e definições comuns para a legislação nacional e comunitária, e permite que se atinja o objetivo da livre circulação dos alimentos na Comunidade. A sua aplicação garante a higiene dos GA em todas as etapas do processo de produção, sendo aplicável às empresas do sector alimentar e não à produção primária, nem à preparação doméstica de GA para fins de utilização privada.

O documento que transpõe para a lei nacional os Regulamentos (CE) n.º 852/2004 e n.º 853/2004 é o Decreto-Lei n.º 113/2006, que revoga o Decreto-Lei n.º 67/98, pondo desta forma, termo às dúvidas instaladas entre autocontrolo e o sistema HACCP. Este diploma visa assegurar a execução e garantir o cumprimento, no ordenamento jurídico nacional, das normas e requisitos dos regulamentos referidos. Mais, determina as autoridades competentes para essa fiscalização, sendo, sem prejuízo da competência atribuída por lei a outras entidades, a Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE), a Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), as Direções Regionais de Agricultura e a Inspeção-geral do Ambiente e do Ordenamento do Território (art. 5º, do Decreto-Lei n.º 113/2006), e o regime sancionatório, assim como as entidades responsáveis pela instrução de processos de contraordenação e pela aplicação de coimas e sanções (Decreto-Lei n.º 113/2006).

Em 2008, o Decreto Regulamentar n.º 20/2008, de 27 de novembro de 2008, veio estabelecer os requisitos específicos relativos às instalações, funcionamento e regime de classificação de estabelecimentos de restauração ou de bebidas.

2.6. Autoridade de Segurança Alimentar e Económica

A 30 de dezembro de 2005 nasce em Portugal a ASAE, que tem como missão avaliar e comunicar os riscos na cadeia alimentar, bem como disciplinar o exercício das atividades económicas nos sectores alimentar e não alimentar, mediante a fiscalização e prevenção do cumprimento da legislação reguladora das mesmas, por parte de todos os intervenientes na cadeia alimentar. A ASAE assume-se como ponto focal da EFSA e organismo de ligação com os outros EM, o que permite garantir, identificar e controlar uma crise (ASAE, 2011).

Neste sentido, prevê-se que a SA seja uma prioridade, não podendo jamais voltar a ser um conceito isolado, mas sim um objetivo dinâmico, ininterrupto e transversal a uma sociedade moderna (Direção Regional da Agricultura e Pescas do Centro [DRAPC], 2003).

Apreende-se assim que mediante aplicação prática de legislação alimentar e a criação da ASAE como entidade inspetora sobre a sua real e adequada aplicação, se procure funcionar de acordo com os seus objetivos maioritários em termos de HSA, ou seja, a proteção da vida e da saúde das pessoas, a proteção dos interesses dos consumidores, a proteção da saúde e do bem-estar dos animais, a fitossanidade e o ambiente, a realização da livre circulação dos GA e alimentos para animais na Comunidade e a consideração das normas internacionais existentes ou em preparação (ASAE, 2011).

3. Perigos Alimentares

Todos os produtos alimentares, desde a sua fase de produção, passando pelas etapas de transporte, armazenamento, preparação, confeção/fabricao, distribuição, exposição comércio e distribuição, até ao momento do seu consumo, estão sujeitos a serem alvo de presenças indesejáveis de diversos agentes, os quais podem provocar danos da saúde dos consumidores, e que se designam por perigos alimentares (Forsythe, 2010).

Segundo a CAC (2003) e o Regulamento (CE) n.º 178/ 2002, “Perigo” alimentar é definido como “agente biológico, químico ou físico presente nos GA ou nos alimentos para animais, ou uma propriedade deste, que pode provocar um efeito nocivo para a saúde”.

Na tabela 2 indicam-se os três principais tipos de perigos alimentares, bem como os agentes mais relevantes que podem ser veiculados pelos GA (Bernardo, 2006).

A origem destes perigos alimentares está frequentemente associada a más práticas de HSA sobre os alimentos, durante as etapas de produção, transformação, preparação, confeção / fabrico, transporte, armazenamento e embalamento dos produtos.

Muitos desses microrganismos também ocorrem naturalmente no ambiente (ar, água, equipamentos, pragas, etc.), onde os alimentos são produzidos e/ou permanecem promovendo assim a sua contaminação (Forsythe, 2010; Bolton & Maunsell, 2004).

Considerando os três tipos de perigos, os perigos biológicos são os que representam maior risco para a segurança dos alimentos (Jouve, Stringer & Baird-Parker, 1998; Jouve, 2002).

Dentro dos microrganismos, o grupo das bactérias é o mais importante, não só pelo número, como também pela diversidade e frequência com que ocorrem. Na sua maioria, os alimentos, a não ser que tenham sido perfeitamente esterilizados, contêm uma quantidade imensa de bactérias por grama de alimento, em especial à superfície. Quando colocadas em condições propícias, estas bactérias multiplicam-se nos alimentos aproveitando as substâncias nutritivas neles contidas, podendo atingir níveis preocupantes para a SA.

Para prevenir, reduzir ou eliminar a contaminação dos alimentos, durante a sua armazenagem e preparação, todos os aspetos inerentes à restauração devem ser controlados. O controlo é atingido se se cumprirem os Programas de pré-requisitos e o plano HACCP. Os pré-requisitos fornecem as bases para uma efetiva aplicação do sistema HACCP, pelo que devem ser operacionalizados previamente. Após isso, o plano HACCP pode ser desenvolvido e implementado. Nesta fase existe, muitas vezes, alguma confusão sobre se os perigos devem ser controlados pelos pré-requisitos, ou através do plano HACCP.

Regra geral, os pré-requisitos devem controlar os perigos associados com a envolvente à unidade de restauração (localização e estruturas, serviços, pessoal, instalações e equipamentos), enquanto o sistema HACCP deverá controlar perigos associados diretamente com o processo, ou seja, com as etapas pelas quais os alimentos passam (armazenagem e preparação) que revelem um grau de risco significativo, após avaliação do mesmo, conforme ilustrado na figura 2.

Tabela 2: Perigos Alimentares (apresentação de alguns exemplos)

Tipo	Categorização	Perigo
Perigo Biológico	Bactérias patogénicas	<i>Salmonella</i> spp., <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Vibrio vulnificus</i> , <i>Escherichia coli</i> (patotipos), <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Clostridium botulinum</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Shigella</i> spp., <i>Brucella</i> spp., <i>Bacillus cereu</i> , <i>Mycobacterium</i> spp.
	Vírus	Vírus da Hepatite A, Norovírus, Coronavírus, Rotavírus, Astrovírus, Reovírus
	Parasitas	Giardia, Cyclospora, Toxoplasma, Cryptosporidium, Tenia solium, Entamoeba Trichinella, Anisakis, Fasciola hepática
Perigo Químico	Substâncias Proibidas	Hormonas anabolizantes, beta-agonistas, tireostáticos, antibióticos
	Resíduos de medicamentos	Antibióticos, sulfamidas, organofosforados, piretroides
	Contaminantes da Cadeia Alimentar (poluentes)	Dioxinas, dibenzofuranos, policlorados bifenil, metais pesados, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, diversos pesticidas
	Substâncias Indesejáveis	Biotoxinas marinhas (bivalves e peixes tóxicos), micotoxinas, toxinas dos cogumelos, alcaloides dos vegetais, glucosídeos cianogénicos, fitatos, oxalatos, etc.
	Aditivos Alimentares	Conservantes, corantes, edulcorantes, entre outros agentes
	OGM	Sojas, milho, arroz, tomate, melão, entre outros
Perigo Físico	Objetos estranhos (OE) presentes na matéria-prima	Insetos, larvas, pedras, areia, terra, anzóis, Lasca de madeira, etc
	OE contaminantes do processo	Estilhaços de vidro, metais, plásticos, materiais de revestimento, resíduos de aço inox (provenientes de esfregão de aço inox), etc
	OE contaminantes pelo manipulador	Cabelos, unhas, adornos
	Componentes do produto que não deveriam estar no produto final	Ossos / espinhas, sementes, caroços, etc

Para um perigo ser avaliado com um grau de risco significativo, a sua ocorrência deve ser razoavelmente provável e as consequências devem ser relativamente graves. O grau de risco pode ser assim definido (Bolton & Maunsell, 2004):

Grau de risco = probabilidade de ocorrência x severidade das consequências

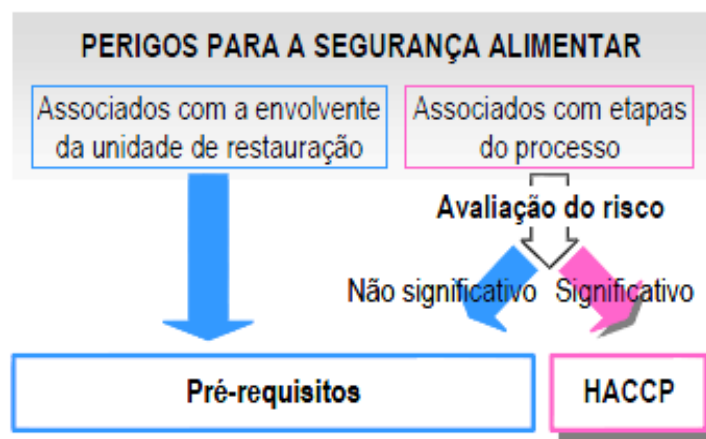


Figura 2: Diferenciação de perigos não significativos e significativos, e decisão sobre o respetivo controlo, através de pré-requisitos ou do plano HACCP (Fonte: Bolton & Maunsell, 2004).

4. Doenças de Origem Alimentar

Segundo a OMS, DOA são doenças geralmente infecciosas ou tóxicas, causadas por agentes que entram no organismo através da ingestão de alimentos contaminados, podendo ser provocadas por bactérias, vírus, parasitas, toxinas e outros contaminantes neles presentes (WHO, 2008). Mais de 250 DOA têm sido descritas, com as bactérias patogénicas a representar a causa mais comum (Centers for Disease Control [CDC], 2005; FoodSafety.gov, 2010).

Segundo Soares (2007) e Germano & Germano (2008), as DOA com causa microbiológica podem ser divididas em infeção, devidas à ingestão de bactérias patogénicas que se multiplicam no hospedeiro e intoxicação resultantes da ingestão de toxinas pré-formadas no alimento. Estas doenças podem ser agudas ou crónicas, envolvendo não só o aparelho digestivo, mas também os sistemas nervoso, circulatório, urinário e respiratório. A gravidade é muito variável podendo ir de situações auto-limitantes até situações graves, incapacitantes ou mesmo mortais (Santos, Correia, Cunha, Saraiva & Novais, 2005).

Embora esteja a ser feito um grande esforço, por parte das entidades governamentais de todo o mundo, no sentido de promover a melhoria da segurança da cadeia alimentar, na verdade, a ocorrência de DOA continua a ser um problema significativo de saúde pública, quer nos países desenvolvidos quer nos países em desenvolvimento. Anualmente, estima-se que cerca de 1.8 milhões de pessoas morram devido a doenças diarreicas, sendo que a maioria está ligada ao consumo de alimentos ou água contaminados (OMS, 2006; WHO, 2009).

No entanto, os casos registados e notificados são apenas uma pequena fração de todas as ocorrências efetivas, dado que o reconhecimento e a notificação dos casos, pelas autoridades de saúde, dependem entre outros fatores, da participação das vítimas, do registo por parte das autoridades médicas e das ações desenvolvidas pelas entidades nacionais com responsabilidade de vigilância sanitária. A OMS estima que o conhecimento oficial das doenças de origem alimentar seja de 10% em relação ao total de ocorrências (Soares, 2007; Adams & Moss, 2008; Forsythe, 2010).

Por outro lado, também se constata que a prevalência destas doenças é influenciada por diversos fatores, entre os quais, as alterações ambientais, a industrialização, os estilos de vida, a urbanização, as mudanças de hábitos, o comércio internacional, a situação económica, o alongamento da cadeia alimentar e ainda pelos conhecimentos, atitudes e comportamentos dos manipuladores de alimentos tanto profissionais como domésticos e ainda pela própria informação do consumidor (Soares, 2007; Adams & Moss, 2008).

As investigações efetuadas aos dados epidemiológicos quando ocorrem surtos de DOA, permitem concluir que os principais fatores de risco contribuintes para estas doenças nos serviços de restauração, estão relacionados com comportamentos do pessoal manipulador e práticas incorretas, nomeadamente, temperaturas de armazenagem impróprias, confeção inadequada, equipamento contaminado, alimentos de origem insegura e higiene pessoal inadequada (FDA, 2013).

Os microrganismos e os seus efeitos sobre o ser humano e sobre os alimentos, são alvo de estudo desde as primeiras experiências de Louis Pasteur, durante o século XIX. Na verdade, um conhecimento melhorado dos microrganismos e dos seus efeitos sobre a qualidade e a higiene dos alimentos permitiu, em poucos anos, uma grande evolução na produção, na conservação, no armazenamento e na qualidade higiénica, e até nutricional, de muitos alimentos (Breda, 1998; Jay et al., 2005).

Contudo, apesar de todas as concertações de estratégias implementadas por cientistas, indústrias e governos, as DOA continuam a constituir um grave problema de saúde

pública em todo o mundo com enormes implicações na saúde e bem-estar das populações e na economia dos países (Henriques, 2008).

No sentido de melhorar e procurar controlar a situação, é importante que sejam implementados sistemas de vigilância epidemiológica das DOA, os quais permitem detetar surtos, monitorizar tendências e prevenir posteriores exposições ao agente causal, para além de permitirem definir prioridades para uma aplicação dos recursos mais efetivos e eficientes (Santos & Cunha, 2007; Kuchenmuller, 2009).

Em consulta aos relatórios da EFSA, no período de 2005 a 2012, verifica-se que os alimentos mais frequentemente associados a surtos de DOA são de origem animal. Observa-se que ovos e produtos derivados, alimentos mistos, peixe e produtos da pesca leite e derivados, são os principais produtos causadores da ocorrência destes surtos alimentares, sendo que a origem destas ocorrências são devidas à contaminação por *Salmonella*, *Campylobacter*, Virus e toxinas bacterianas (EFSA, 2007a; EFSA, 2007b, EFSA, 2009; EFSA, 2010; EFSA, 2011; EFSA, 2012; EFSA, 2013; EFSA, 2014). Na tabela 3 pode observar-se o número de surtos ocorridos, pessoas afetadas, hospitalizadas e falecidas ao longo dos últimos 8 anos. Relativamente aos locais de ocorrência, verifica-se que a restauração pública (restaurantes, *pubs*, cafés, bares e hotéis), estão em 2º lugar, logo após a casas particulares, em todos os anos em estudo, ressaltando a importância que estes estabelecimentos apresentam na garantia da SA.

Tabela 3 – Surtos ocorridos na UE de 2005-2012 e percentagem de ocorrência em restauração pública
(Fonte: EFSA, 2007a a 2014)

Ano	Surtos	Pessoas afetadas	Hospitalizadas	Mortes	Restauração pública (%)
2005	5 311	47 251	5 330	24	-
2006	5 710	53 568	5 525	50	19,8
2007*	5 609	39 727*	3 291*	19*	28,6*
2008	5 332	45 622	6 230	32	23,1
2009	5 550	48 964	4 356	46	20,62
2010	5 262	43 483	4 695	25	30,8
2011	5 648	69 553	7 125	93	34,48
2012	5 363	55453	5 118	41	23,9

*Neste ano foi alterado o sistema de reportar os dados e só foram publicados os referentes a surtos verificados

Em Portugal não existe qualquer sistema de vigilância implementado e os dados publicados são escassos e referentes apenas aos surtos de DOA que chegam ao

conhecimento dos laboratórios de Microbiologia dos Alimentos do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA) (Lisboa e Porto) (INSA, comunicação pessoal). Os últimos dados publicados referem-se ao ano 2013, em que houve registo de 10 surtos, nos quais foram reportados 183 casos e 17 hospitalizações (Viegas et al., 2014). Na tabela 4 podem ser observados os dados relativos aos agentes etiológicos, responsáveis por toxinfecções alimentares, isolados entre 2008 e 2011 (Correia et al., 2013).

Tabela 4 – Surtos e agentes etiológicos em 2008-2011: dados do INSA* (Fonte: Correia et al, 2013)

Agente etiológico	Nº de surtos	%
Enterotoxina estafilocócica e/ou estafilococos coagulase positiva	14	17,3
<i>Clostridium botulinum</i>	9	11,1
<i>Salmonella</i> spp.	6	7,4
<i>Clostridium perfringens</i>	4	4,9
<i>Bacillus cereus</i> e <i>Bacillus</i> spp.	2	2,5
<i>Escherichia coli</i> (VTEC)	1	1,2
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1	1,2
Desconhecido	44	54,3
Total	81	100

*INSA – Instituto Nacional de Saúde Dr Ricardo Jorge

Para além de uma preocupação crescente em saúde pública, as DOA representam também importantes danos económicos. Os custos que se associam a uma contaminação accidental dos alimentos e o consequente desenvolvimento de doenças, constituem um risco importante para as empresas do sector alimentar. Como já referido, se ocorrer o fecho temporário da atividade pela autoridade competente, para além da perda de dias de trabalho, será difícil recuperar a imagem depreciativa do estabelecimento e do serviço (Zanussi Profissional, s.d.).

É necessário garantir, que os alimentos que chegam ao consumidor sejam seguros, isto é, que não prejudiquem a saúde de quem os consome. A SA é um atributo inerente a um produto de qualidade. Para o conseguir, as empresas devem apostar, entre outras, nas regras de HSA (FIPA, 2001).

Segundo o relatório da Conferência Internacional “Segurança Alimentar na Restauração: uma responsabilidade ignorada?”, são vários os fatores que contribuem para a ocorrência de DOA neste sector, podendo ser distinguidos os seguintes: matérias-primas contaminadas; manipulações inadequadas que originam contaminações cruzadas; armazenagens em frio e arrefecimentos impróprios; práticas de descongelação

incorretas; confeções inadequadas; deficiências ao nível da higiene pessoal; manipuladores infetados; deficiências na higienização de instalações, equipamentos e utensílios; panos de loiça e esponjas utilizados para diversas funções; alimentos preparados com muita antecedência; armazenagem à temperatura ambiente; distribuição demorada (European Union Risk Analysis Information Network, 2003).

4.1. Microrganismos nos Alimentos

Os microrganismos incluem bactérias, vírus, fungos, algas e protozoários. Entre estes, alguns atuam de forma desejável, outros de forma indesejável, nos alimentos (Ray, 2004).

É reconhecido que entre as bactérias patogénicas, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., e *Staphylococcus* coagulase positiva, são as mais propícias a estarem presentes no ambiente das cozinhas de restauração, pois têm sido as mais detetadas em alimentos prontos a comer. Por outro lado, *Escherichia coli* é indicadora de ocorrência de contaminações de origem fecal e os Microrganismos a 30°C são indicadores do nível de higiene geral, tanto do alimento como do ambiente, com o qual contactou até aquele momento (Bolton & Maunsell, 2004; Forsythe, 2010).

Assim, o estudo incidiu-se sobre estas bactérias, sobre as quais se procede de seguida a uma breve descrição.

4.1.1. *Listeria monocytogenes*

A bactéria *Listeria monocytogenes* é Gram-positiva ubiqüitária, podendo ser encontrada em vários ambientes, tais como, no solo, na vegetação, nos animais, nos humanos, na água e nos esgotos. É particularmente resistente a stresses ambientais, tornando-se capaz de sobreviver a muitos métodos de preservação de alimentos, nomeadamente a temperaturas muito baixas como 3°C, permitindo assim a sua multiplicação mesmo em ambientes refrigerados (Bolton & Maunsell, 2004; Forsythe, 2010).

Esta bactéria também já foi encontrada numa variedade de alimentos, tanto crus como processados, incluindo leite cru e produtos derivados (queijo de pasta mole e gelado), carne (incluindo avícola) e produtos derivados, vegetais e pescado. Vários alimentos prontos a comer têm sido implicados em casos de listeriose. Pois, esta bactéria patogénica amplamente disseminada na natureza, penetra no organismo por meio da

ingestão de alimentos contaminados, atinge o trato intestinal aderindo-se à mucosa e invadindo-a, desencadeando assim a situação de doença no Homem (Bolton & Maunsell, 2004; Pagotto, Corneau & Farber, 2006; Swaminachan, Cabanes, Zhang & Cossart, 2007; Forsythe, 2010). A infeção é grave para indivíduos imunocomprometidos, incluindo grávidas, recém-nascidos e idosos. Os sintomas da listeriose podem ser, septicémia, meningite, encefalite e infeção intrauterina em grávidas, que pode resultar em aborto espontâneo. Não é uma doença muito frequente, mas a taxa de letalidade é muito elevada, cerca de 20% (FDA, 2012). A listeriose, é um problema muito mais sério nos países desenvolvidos, do que naqueles em desenvolvimento, nos quais a doença ocorre com menor frequência. Assim nos EUA, estima-se que 1600 pessoas por ano sejam infetadas, registando-se 250 mortes (Scallan et al, 2011). A nível da UE, em 2012, registaram-se 1642 casos confirmados de listeriose com um total de 198 mortes, o que representou o número mais elevado de casos fatais reportados desde 2006. Relativamente a surtos, foram reportados cinco que originaram 55 doentes, dos quais 47 foram hospitalizados e 9 morreram, o que representou 37,5 % de todas as mortes ocorridas na Europa por ingestão de alimentos durante esse ano (EFSA, 2014).

4.1.2. *Salmonella* spp.

Os microrganismos do género *Salmonella* spp., pertencem à família *Enterobacteriaceae* sendo, por consequência, bacilos Gram-negativos, anaeróbios facultativos. Esta bactéria encontra-se no trato intestinal de animais domésticos e selvagens, bem como em seres humanos e é disseminada com as matérias fecais no ambiente, onde pode persistir durante muito tempo. Por este facto, a contaminação por *Salmonella* spp. pode ocorrer numa grande variedade de GA quer de origem animal quer vegetal, os quais podem ser contaminados direta ou indiretamente, quando o microrganismo é introduzido nas áreas de preparação e tem a oportunidade de se multiplicar nos alimentos por práticas incorretas de temperatura de armazenagem, inadequado tratamento térmico ou, contaminação cruzada de alimentos crus com alimentos prontos a comer (Bolton & Maunsell, 2004; Jay et al, 2005; Forsythe, 2010; EFSA, 2014).

Assim, facilmente se compreende que a salmonelose seja associada a alimentos diversos, incluindo ovos, carne de aves, carne de porco, carne bovina, leite e derivados, pescado, marisco, molhos e temperos para saladas, misturas para bolos, sobremesas,

gelatina, cacau e chocolates (Forsythe, 2010; EFSA, 2012). Mais recentemente, tem estado relacionada também com a ingestão de frutos e vegetais verdes. A salmonelose constitui um dos problemas de saúde pública mais comuns em todo o mundo. A nível da UE, nos últimos cinco anos tem havido uma tendência decrescente como resultado dos programas de controlo implementados na produção primária, para reduzir os níveis de *Salmonella* spp. nos bandos de aves. Assim, em 2012 foram reportados 61 casos fatais, num total de 91034 confirmados o que representou um decréscimo de 4.7 % face a 2011. Relativamente aos surtos reportados, *Salmonella* spp. continua a ser o agente mais comum em DOA na UE (28.6 %). Foram reportados 1533 surtos que originaram 11895 casos, 2283 hospitalizações e 10 mortes (EFSA, 2012). Em Portugal, segundo Silveira, Marque & Machado (2013a), entre 2000 e 2012 foram estudadas 6366 estirpes de *Salmonella* spp., verificando-se tal como na UE, um decréscimo de casos registados. Tal como na Europa, o serovar mais frequente foi *Salmonella* Enteritidis, seguido de *Salmonella* Thyphimurium. Nos EUA estima-se que ocorram 1 milhão de doentes anualmente por *Salmonella* spp., com 19000 hospitalizações e 380 mortes sendo que *Salmonella* spp. é o maior responsável pelos casos de hospitalização e de morte devidos a DOA. De igual modo em Inglaterra, País de Gales, Austrália e EUA, *Salmonella* spp. é o microrganismo mais frequentemente implicado em DOA (Scallan et al, 2011).

Segundo Sá & Ferreira (2007), a diminuição do risco baseia-se na implementação de medidas preventivas em três grandes linhas de atuação: controlo de *Salmonella* spp. nos alimentos para animais, prevenindo-se a introdução de bactérias nos animais; aumento da higiene durante o abate e posteriormente no processamento da carne; preparação final do alimento e educação da indústria e do consumidor na implementação de medidas efetivas de HSA.

4.1.3. *Staphylococcus* coagulase positiva (*Staphylococcus aureus* e outras espécies)

As bactérias do género *Staphylococcus* são Gram positivas, da família *Micrococcaceae*, anaeróbias facultativas e geralmente aparecem em cachos ao microscópio (FDA, 2012). Os estafilococos são facilmente destruídos pelo calor, sensíveis à acidez, tolerantes ao sal (halotolerantes) e aos nitritos (Jay et al, 2005). As intoxicações resultam da ingestão de enterotoxinas produzidas por algumas estirpes de *Staphylococcus* coagulase positiva, ou seja, pela ingestão de uma toxina preformada em alimentos contaminados com este microrganismo. O principal sintoma da doença é o aparecimento de episódios

consecutivos de vômitos, 1h a 6 h após o consumo do alimento contaminado. Apesar destas intoxicações não serem particularmente severas, são muito frequentes, podendo ocorrer isoladamente ou em surtos. Contrariamente às células de *Staphylococcus*, a enterotoxina é muito termo estável e resistente à cozedura e a enzimas proteolíticas, podendo persistir no alimento, mesmo que o microrganismo já não se encontre presente (Forsythe, 2010).

Aproximadamente 45% do público em geral é portador assintomático, já que o Homem é o principal reservatório de *Staphylococcus* coagulase positiva, pois são bactérias usuais na pele, nas mucosas, no trato respiratório superior e no intestino do Homem, o que concede que os manipuladores de alimentos constituam normalmente a principal fonte de contaminação dos alimentos (Bolton & Maunsell, 2003).

Os alimentos geralmente relacionados com as intoxicações, são aqueles que são sujeitos a uma manipulação considerável durante a preparação e mantidos a temperaturas ligeiramente elevadas e incluem saladas com ovo, maionese, atum ou frango, recheios de carne, produtos de panificação, sanduiches e leite e produtos derivados (Forsythe, 2010; FDA, 2012; EFSA, 2014). Em 2012, na UE ocorreram 346 surtos devidos a enterotoxina estafilocócica tendo ocorrido uma morte. Em Portugal entre 2009 e 2013 *Staphylococcus* coagulase positiva e/ou enterotoxina foram os agentes mais frequentemente implicados em DOA (Viegas et al., 2013). Nos EUA, anualmente estimam-se 240148 doentes devido a *S. aureus*, 1100 hospitalizações e 6 mortes (Scallan et al., 2011).

4.1.4. *Escherichia coli*

E. coli é uma bactéria Gram-negativa pertencente à família *Enterobacteriaceae*, que faz parte da microbiota do trato intestinal de humanos e animais de sangue quente. Como consequência, a maioria das estirpes não é patogénica, contudo, nos últimos anos tem sido reconhecida a importância desta bactéria como causa de doença diarreica (Forsythe, 2010). Os principais grupos de estirpes patogénicas, responsáveis por quadros de gastroenterites no Homem são *E. coli* enteropatogénica (EPEC), que afeta sobretudo recém-nascidos e lactantes, *E. coli* enterotoxinogénica (ETEC) responsável por diarreia dos viajantes, *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) que afeta jovens e adultos com desinteria bacilar, *E. coli* enteroagregativa (EAEC) que provoca diarreia persistente em crianças, *E. coli* difusamente aderente (DAEC) provoca diarreia em crianças e *E. coli*

verotoxinogénica (VTEC/STEC) grupo em que se incluem as estirpes enterohemorrágicas (EHEC) como *E. coli* O157:H7, causador da colite hemorrágica, doença grave que afeta preferencialmente, crianças e idosos (Jay *et al*, 2005; Meng, Doyle, Zhaot & Zhaot, 2007; Forsythe, 2010; Federal Institute for Risk Assessment, 2014). A transmissão para humanos, ocorre principalmente por meio de consumo de alimentos contaminados, tais como carnes cruas ou pouco cozinhadas e leite cru (Forsythe, 2010; Bolton & Maunsell, 2004). No entanto, sumo de maçã, iogurte, queijo e vegetais também têm sido implicados. A contaminação fecal da água e outros alimentos, bem como a contaminação cruzada durante a preparação dos alimentos pode ser responsável pela infeção (Forsythe, 2010; Bolton e Maunsell, 2004).

Nos países desenvolvidos, as epidemias de EPEC, ETEC e EIEC são pouco frequentes. Já os surtos por VTEC e EHEC, têm ocorrido com maior frequência nos EUA, Canadá, Reino Unido e Japão sendo o sorotipo mais frequente O157:H7 (Germano & Germano, 2008). Na UE ocorreram 5671 casos por estirpes VTEC, em 2012 e 22 mortes foram relatadas. *E. coli* O157 foi o serovar mais frequente (1960), seguido pelo O26 (417). A nível de surtos foram relatados 51, sendo que 10 tiveram origem em água contaminada (EFSA, 2014). Em Portugal entre 2002 e 2012, registaram-se 497 casos de infeção por *E. coli* patogénico, sendo que a maioria pertencia ao patotipo ETEC (183) seguido de VTEC (136) (Silveira, Marques & Machado, 2013b). No que concerne a surtos, em 2013 ocorreu 1, pelo patotipo VTEC não O157, que originou 50 casos e 3 hospitalizações e teve origem em salsa crua (Viegas *et al.*, 2014). Já no período de 2008-2011, ocorreu também um surto que afetou apenas 5 pessoas (Correia *et al.*, 2013). Anualmente nos EUA estimam-se 63153 doentes, 2138 hospitalizações e 20 mortes devido a *E. coli* O157 e 112752 casos de doença, 271 hospitalizações e 0 mortes por *E. coli* VTEC (não O157). Por estirpes ETEC estimam-se 17894 casos de doença, 12 hospitalizações e 0 mortes (Scallan *et al.*, 2011).

Neste trabalho, o agente *E. coli*, foi usado como indicador visto que, por ser um habitante normal da microbiota intestinal, é considerado o melhor indicador de contaminação fecal, sendo utilizado para determinar a probabilidade de existência de microrganismos patogénicos com origem em material fecal. A dificuldade associada à deteção de pequenas quantidades de microrganismos potencialmente patogénicos nos GA, torna este procedimento pouco eficaz numa aplicação de rotina. Em alternativa, pode-se pesquisar organismos associados que estejam presentes em maior número, em vez de monitorizar microrganismos patogénicos específicos, sendo este o conceito de

microrganismos indicadores (Ray, 2004; Jay et al., 2005; Adams & Moss, 2008; Wong-González, 2008).

4.1.5. Microrganismos a 30°C

Embora com limitações, a contagem dos microrganismos aeróbios mesófilos tem uma especial importância na microbiologia alimentar. Esta contagem, que permite o crescimento de bactérias e fungos capazes de se multiplicarem a 30°C, em condições de aerobiose, é largamente usada como indicador da deterioração potencial do alimento ou para conferir informações sobre as condições higiénico-sanitárias durante a produção, preparação, armazenamento e distribuição dos alimentos. Permite ainda, determinar a aceitabilidade organolética, o respeito pelo tempo e temperatura de conservação, eficácia do tratamento e tempo de vida útil. O teor em que se detetam, será revelador da qualidade microbiológica dos GA (Downes & Ito, 2001; Jay et al., 2005).

No entanto, a existência de baixas contagens, não é uma garantia de que as amostras se encontram livres de microrganismos potencialmente patogénicos, pelo que os resultados deste parâmetro devem ser complementados com outras determinações (Downes & Ito, 2001).

5. Sistema *Hazard Analysis and Critical Control Points*

5.1. Conceito do sistema *Hazard Analysis and Critical Control Points*

O sistema HACCP assume-se como sendo um sistema de carácter preventivo, que visa identificar os perigos associados à contaminação dos GA e definir as medidas preventivas para os controlar, em todas as fases de produção (Oliveira, 2007). Ou seja, foi criado como uma abordagem estruturada para garantir a segurança de produtos alimentares específicos e dos seus processos associados, envolvendo:

- ✓ Identificação de perigos potenciais e previsíveis, tais como agentes patogénicos, e das condições que levam à sua presença e proliferação;
- ✓ Identificação de requisitos específicos para o seu controlo;
- ✓ Medidas para a medição e avaliação contínua da eficácia do sistema.

Assim, as etapas consideradas como críticas para o controlo dos perigos para a SA, são geridas através da monitorização de limites críticos das medidas de controlo. No caso de ocorrer um desvio de um limite crítico, deve ser acionado um plano de ações corretivas predeterminado (Notermans, Barendsz, Zeist & Rombouts 2002; Gaze, Betts & Stringer 2002).

Neste âmbito, o sistema deve ser aplicado em todas as etapas de processo e desenvolvimento de produtos, desde a produção primária até ao consumidor final, ou seja, ao longo de toda a cadeia alimentar, embora seja específico para cada um desses processos. Integra mudanças, nomeadamente no que respeita a inovações nos equipamentos e desenvolvimentos tecnológicos necessários e baseia-se numa abordagem multidisciplinar, que deve incluir áreas como a medicina, saúde ambiental, saúde pública, química, engenharia e tecnologia alimentar (CAC, 2003).

Desde 1986, que a CAC recomenda a aplicação de sistemas de autocontrolo baseados nos princípios do HACCP e, em 1989, a Organização Mundial de Saúde (OMS) considerou-o um dos melhores meios para garantir a segurança dos alimentos, aconselhando a introdução dos respetivos conceitos nas regulamentações nacionais e internacionais (Afonso, 2006).

5.2. Origem do sistema *Hazard Analysis and Critical Control Points*

Este sistema foi originalmente desenvolvido na década de 60, pela *Pillsbury Company*, em colaboração com a *National Aeronautics and Space Administration* (NASA) e os laboratórios do Exército dos EUA, para assegurar a inocuidade dos alimentos fornecidos ao programa espacial. Nessa altura, foram reconhecidas as limitações no controlo baseado em testes microbiológicos do produto final, sendo então necessária uma abordagem preventiva na produção de alimentos seguros. Um sistema de engenharia conhecido como *Failure Mode and Effect Analysis* (FMEA), foi utilizado como base para este conceito (Notermans et al., 2002; Gaze et al., 2002). Em resultado desta avaliação, nasceu o sistema HACCP, no âmbito do desenvolvimento de um projeto para a produção de alimentos 100 % seguros, para o programa espacial Norte-americano APOLO (Baptista, s.d.).

O sistema HACCP foi apresentado pela primeira vez em 1971, pela *Pillsbury Company*, numa conferência sobre SA. Em 1973, foi publicado o primeiro documento detalhando

a técnica do sistema, o *Food Safety Through the Hazard Analysis and Critical Control Point System* (Baptista et al., 2003).

Em 1985 a Academia Nacional de Ciências dos EUA, recomendou o uso do sistema HACCP nos programas SA e, em 1988, a *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF) sugeriu a utilização do sistema como base para o controlo de qualidade, do ponto de vista higiénico e microbiológico (Vaz, Moreira & Hogg, 2000).

Em 1993, a CAC criou as “Diretrizes para aplicação do sistema HACCP”. Como referido no ponto 2.5., a UE procede inicialmente à harmonização de normas gerais aplicáveis a GA, integrando nestas os princípios do sistema HACCP, pela adoção da Diretiva n.º 93/43/CEE, do Conselho, a qual viria depois a ser revogada pelo Regulamento (CE) n.º 852/2004.

5.3. A importância do sistema *Hazards Analysis and Critical Control Points* para os estabelecimentos de restauração pública

Do ponto de vista higio-sanitário, a restauração é um sector complexo, pois existe uma enorme variedade de alimentos manipulados. Com toda esta complexidade do sector, tornou-se necessário aplicar não só as BPH e confeção, mas também um programa de SA preventivo, baseado no HACCP (Baptista & Antunes, 2005).

Na legislação alimentar adotada em Portugal, sobretudo o Regulamento (CE) n.º 178/2002 e o Regulamento (CE) n.º 852/2004, encontram-se consagradas as regras de higiene dos GA a que estão sujeitas as fases de preparação, transformação, fabrico, embalagem, armazenamento, transporte, distribuição, manuseamento, venda e colocação dos alimentos à disposição do público consumidor, por forma a garantir a sua segurança e salubridade (Baptista et al., 2003; Durán, et al., 2003; Regulamento (CE) n.º 852/2004).

A implementação do HACCP implica melhoria na gestão da SA, como complemento à gestão de sistemas de qualidade. Os principais benefícios relacionam-se com a melhoria da eficiência no controlo de custos e nos níveis gerais da SA, evita a contaminação dos consumidores, assegura o cumprimento da lei, melhora a qualidade geral dos alimentos, facilita a organização do processo de produção alimentar, assim como promove o espírito de equipa e eficiência dos profissionais da área alimentar (FSAI, 2012).

5.4. Os 7 Princípios do sistema *Hazards Analysis and Critical Control Points*

O sistema HACCP tem por objetivo a identificação de perigos, com vista à sua posterior eliminação ou redução a níveis aceitáveis e a concentração do controlo da produção de alimentos para consumo humano, essencialmente nos Pontos Críticos de Controlo (PCC's), que não são mais do que as “etapas do processo de produção onde a aplicação de medidas de controlo se mostra eficaz na redução ou eliminação dos perigos que possam encontrar-se presentes” (CAC, 2003; Afonso, 2006).

O desenvolvimento, implementação e manutenção prática de um sistema HACCP, de acordo com a CAC e o Regulamento (CE) n.º 852/2004, deve obedecer à aplicação prática de uma metodologia baseada em sete princípios, como se apresentam na tabela 5 (CAC, 2003).

5.5. Metodologia de aplicação prática do sistema *Hazards Analysis and Critical Control Points*

A implementação de um sistema HACCP, requer a aplicação de uma metodologia apropriada, que se traduz na prática na aplicação sequencial de 12 etapas. Estas 12 etapas são compostas por cinco etapas preliminares e pelos 7 princípios ao sistema HACCP (Chambel et al., 2002).

As cinco etapas preliminares, correspondem à estruturação da equipa que vai desenvolver o estudo e efetuar o planeamento do HACCP e à compilação de informação de suporte relevante para a realização da análise de perigos e aplicação prática dos 7 princípios do sistema HACCP (Baptista & Antunes, 2005; CAC, 2003; FDA 2011).

Na tabela 6 são apresentadas e descritas as 12 etapas, que definem a metodologia de aplicação prática de um sistema HACCP, numa empresa do sector alimentar. São especificamente descritas as 5 etapas preliminares e indicados os 7 princípios do sistema HACCP (CAC, 2003).

A figura 3 procura representar a sequência e a interação das 5 etapas preliminares com os 7 princípios do sistema HACCP, definindo assim as 12 etapas que representam a metodologia de implementação de um sistema HACCP, numa empresa do sector alimentar.

Tabela 5 – Os 7 Princípios do sistema HACCP

	Princípios	0Descrição
1º Princípio	Análise de Perigos	Consiste na identificação dos potenciais perigos associados a todas as fases do processo. Em conjunto com esta análise, realiza-se uma avaliação do grau de risco do perigo identificado (anexo 1), bem como a identificação de possíveis medidas preventivas para o seu controlo. Esta análise é realizada com o intuito de se determinar a significância dos perigos.
2º Princípio	Determinação dos Pontos Críticos de Controlo (PCC)	Esta determinação dos PCC é efetuada através da aplicação de uma ferramenta denominada de árvore de decisão (anexo 2), sobre as etapas em que a significância dos perigos é maior, com vista a fazer atuar para prevenir, reduzir a níveis aceitáveis ou eliminar um perigo, que interfere com a inocuidade do alimento. Um correto controlo destes pontos críticos, resulta na minimização da probabilidade de um eventual perigo.
3º Princípio	Estabelecimento de limites críticos	A cada PCC estabelece-se um limite crítico. Um limite crítico consiste num valor ou critério que diferencia a aceitação ou não do processo. É importante assegurar um limite crítico para cada PCC, de forma a garantir que estes se encontram devidamente controlados.
4º Princípio	Estabelecimento de sistemas de monitorização	Este princípio pressupõe observar e/ou medir os parâmetros de controlo, de modo sistemático, para se certificar de que o PCC está dentro dos valores estabelecidos nos limites críticos. Na prática, consiste em estabelecer respostas às seguintes questões: O quê? Quem? Como? Quando? Onde?
5º Princípio	Estabelecimento de ações corretivas	Devem ser designadas ações corretivas na eventualidade da monitorização indicar que um PCC não está sob controlo. As ações corretivas a tomar, devem fazer com que o PCC volte a valores aceitáveis, ou seja, dentro da gama do seu limite crítico.
6º Princípio	Estabelecimento de procedimentos de verificação	Os procedimentos de verificação permitem confirmar a eficácia do sistema HACCP. Esta verificação inclui a aplicação de métodos, procedimentos, testes e outras avaliações que permitam confirmar que o plano HACCP é cumprido e o sistema HACCP é eficiente.
7º Princípio	Documentação e registos	Para a correta implementação de um sistema HACCP, devem ser documentados todos os procedimentos e registos apropriados que verifiquem a implementação de todos estes princípios. Os registos constituem uma evidência da realização de atividades associadas à operacionalidade do sistema HACCP.

Tabela 6 – As 14 Etapas de implementação do sistema HACCP

		Etapas	Descrição
5 Etapas Preliminares	1ª Etapa	Constituição da equipa HACCP	A equipa HACCP deve ser multidisciplinar e a responsável pela elaboração, implementação e manutenção do sistema HACCP. Todos os elementos da equipa devem ter formação adequada às necessidades.
	2ª Etapa	Descrição do produto e das matérias-primas	Consiste na descrição ao pormenor do tipo de matérias-primas utilizadas, sua origem, características, condições de preparação, entre outros, bem como de todas as propriedades do produto final.
	3ª Etapa	Uso pretendido do produto	Prevê definir quais as condições de utilização do produto por parte dos consumidores, quem é o público-alvo, quais as suas características e possíveis sensibilidades.
	4ª Etapa	Construção do fluxograma	Apresentação esquemática e pormenorizada de todos os passos do processo de fabrico, de modo a facilitar a realização da análise de perigos em cada etapa produtiva.
	5ª Etapa	Verificação do fluxograma <i>in loco</i>	Esta etapa tem como objetivo comparar o fluxograma elaborado com o processo produtivo real, de forma a assegurar que o mesmo é válido e representa a realidade.
7 Princípios do sistema HACCP	6ª Etapa	Análise de Perigos	(1º Princípio)
	7ª Etapa	Determinação dos PCC's	(2º Princípio)
	8ª Etapa	Estabelecimento de limites críticos	(3º Princípio)
	9ª Etapa	Estabelecimento de sistemas de monitorização	(4º Princípio)
	10ª Etapa	Estabelecimento de ações corretivas	(5º Princípio)
	11ª Etapa	Estabelecimento de procedimentos de verificação	(6º Princípio)
	12ª Etapa	Documentação e registos	(7º Princípio)

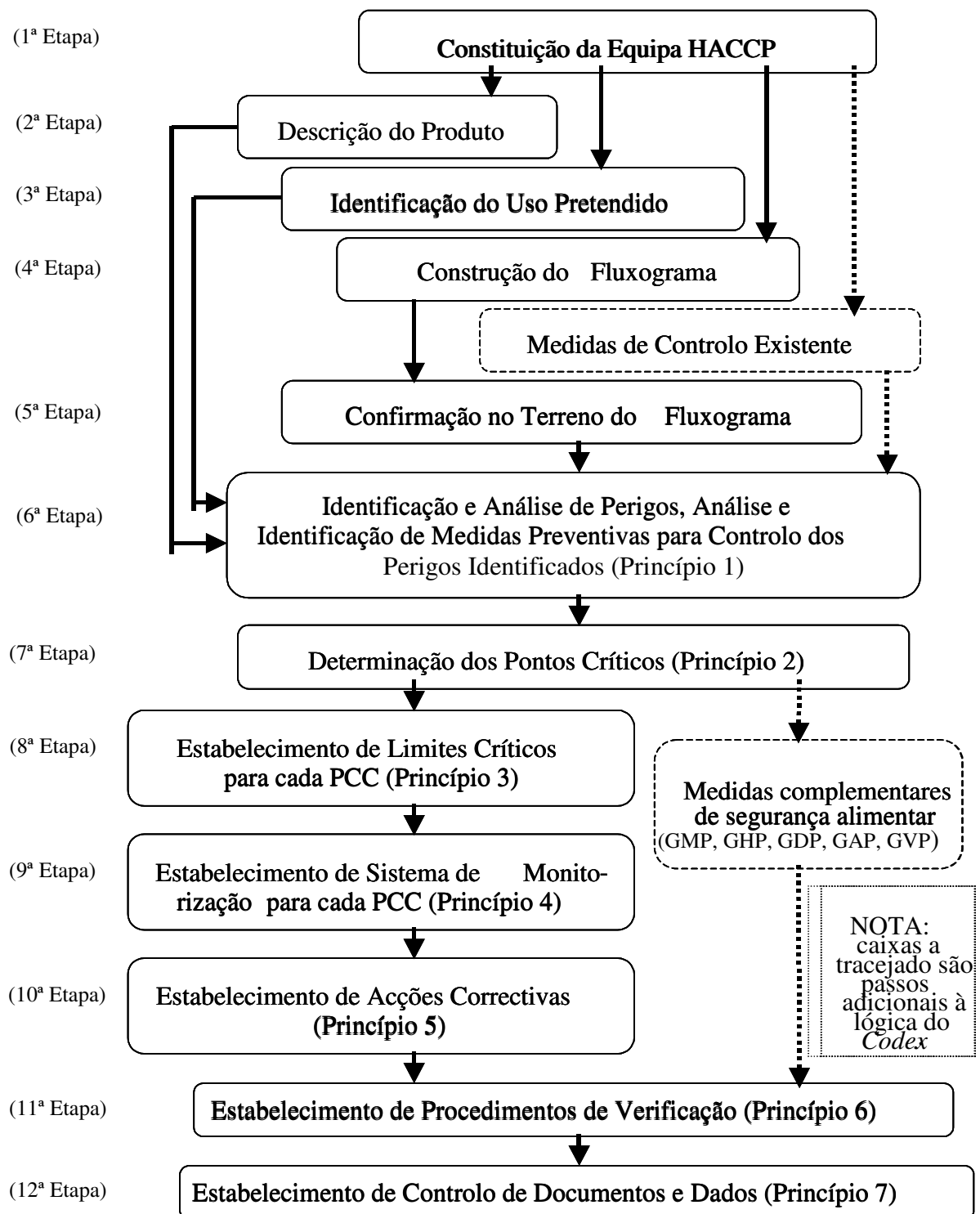


Figura 3: A sequência e a interação das 12 etapas da metodologia do sistema HACCP (Fonte: Baptista et al., 2003).

5.6. Benefícios do sistema *Hazards Analysis and Critical Control Points*

O sistema HACCP permite obter benefícios importantes em todas as organizações alimentares, de modo a que estas respondam mais eficazmente às solicitações de um mundo cada vez mais exigente e global, permitindo:

- ✓ Aplicabilidade na totalidade da cadeia alimentar, controlando os GA em todas as suas etapas da cadeia alimentar, ou seja, “do prado ao prato”;
- ✓ Proteger os consumidores, com a diminuição da probabilidade de ocorrência de DOA, que põem em risco a saúde dos consumidores e a imagem da empresa;
- ✓ Aumento dos níveis de SA do seu estabelecimento, prevenindo DOA e outros problemas, aumentando por sua vez a confiança e fidelização dos seus clientes;
- ✓ Permite controlar os GA em todas as etapas da cadeia alimentar;
- ✓ Aumento da confiança e satisfação dos clientes e mercados;
- ✓ Redução de perdas de matérias-primas e produto final, visto ser baseado numa filosofia preventiva;
- ✓ Maior confiança na produção de alimentos seguros, reduzindo o risco de colocar no mercado produtos nocivos para a saúde pública;
- ✓ Assegurar e mostrar que os incidentes podem ser prevenidos, minimizando os riscos para o consumidor e auxiliando a empresa a manter o negócio;
- ✓ Flexibilidade na sua aplicação;
- ✓ Melhoria da imagem global da empresa, com um método reconhecido internacionalmente, permitindo acesso a novos mercados;
- ✓ Exigências do mercado - Acompanhamento da evolução;
- ✓ Melhoria da notoriedade, imagem e prestígio da organização;
- ✓ É recomendado pela OMS, ICMSF e FAO;
- ✓ Cumprimento da legislação nacional e comunitária em vigor (Chambel et al., 2002; CAC, 2003).

6. Pré-requisitos de Higiene e Segurança Alimentar ao sistema *Hazards Analysis and Critical Control Points*

Atendendo a que a SA consiste em assegurar a alimentação a cada cidadão, com a qualidade necessária para garantir uma vida saudável, num sistema de alimentação pública, a segurança refere-se à responsabilidade em relação à saúde do cliente (Lobato & Santos, 2010). Assim, quando a população opta por ingerir refeições fora do seu

ambiente doméstico, recorrendo a estabelecimentos de restauração e bebidas, confia a terceiros todas as decisões respeitantes à preparação e à confeção dos alimentos. Estes estabelecimentos assumem a obrigação de garantir a higiene e a segurança dos produtos alimentares, aos seus clientes (Henriques, 2008).

De acordo com o Artigo 2.º do Regulamento (CE) n.º 852/2004, compreende-se por higiene dos GA, as medidas e condições necessárias para controlar os riscos e assegurar que estes sejam próprios para consumo humano, tendo em conta a sua utilização prevista.

O objetivo de desenvolver GA seguros ao consumidor, desde a sua produção até ao seu consumo, passa por criar uma base sólida do sistema HACCP. Para isso, devem estar implementadas e em perfeito funcionamento, as medidas básicas de higiene, de modo a permitir que o sistema se centre nos perigos relacionados com o processo. Estas condições e práticas, são consideradas como os pré-requisitos do sistema HACCP. Os pré-requisitos controlam os perigos associados aos meios envolventes ao processo de produção do GA, enquanto o sistema HACCP controla os perigos associados ao processo de produção (Novais, 2006; FDA, 2011).

De acordo com CAC (2003), os pré-requisitos a serem considerados e aplicados numa empresa do sector alimentar, sobretudo num estabelecimento de restauração pública, incluem:

- ✓ Formação dos Operadores;
- ✓ Saúde e Higiene do Pessoal;
- ✓ Controlo de Pragas;
- ✓ Potabilidade da Água;
- ✓ Limpezas e Desinfecção (Plano de Higienização);
- ✓ Instalações, Equipamentos e Utensílios;
- ✓ Recolha de Resíduos;
- ✓ Boas Práticas de Higiene e Segurança Alimentar dos GA;
- ✓ Análises de Controlo de Qualidade e Segurança Alimentar.

De seguida, através da tabela 7, são apresentados os principais requisitos de HSA, referentes a cada pré-requisito e, que se tornam fundamentais a serem aplicados por parte dos responsáveis e operadores dos estabelecimentos de restauração pública, de forma a conferir a segurança dos alimentos e por conseguinte, a zelarem pela saúde dos consumidores (Regulamento 852, 2004; CAC, 2003).

Tabela 7 - Pré-requisitos ao sistema HACCP

Pré-requisitos	Requisitos a aplicar	Referências
Formação dos Operadores	Garantir que o pessoal que manuseia os alimentos dispõe de conhecimentos e formação adequada, conforme as necessidades.	Regulamento nº 852/2004
	Conferir que os responsáveis pelo desenvolvimento e manutenção do sistema HACCP, possuem formação adequada para a aplicação do HACCP.	Regulamento nº 852/2004
	Realizar avaliações periódicas sobre a eficácia da formação e instruções facultadas aos operadores, devendo rever e atualizar os programas.	CAC, 2003
	Assegurar que cada trabalhador, em cada ano, tenha recebido o número mínimo de 35 horas de formação contínua. Esta formação pode ser desenvolvida pelo empregador, por entidade formadora certificada para o efeito, ou por estabelecimentos de ensino reconhecidos pelo ministério competente, dando lugar à emissão de certificado.	Lei nº 7/2009
Saúde e Higiene do Pessoal	Em caso de doença facilmente transmissível através dos alimentos ou que esteja afetada, por exemplo, por feridas infetadas, infeções cutâneas, inflamações ou diarreia, o operador deverá informar imediatamente o seu superior sobre a sua doença, e este, deverá afastar ou proibir o operador de manipular GA, sempre que se verifique qualquer probabilidade de contaminação direta ou indireta.	Regulamento nº 852/2004
	Assegurar que todo o pessoal que manipula GA demonstre um elevado nível de higiene pessoal, que utiliza vestuário adequado e exclusivo para o trabalho, devendo ser composto por: touca, bata ou casaca e calças, avental e calçado.	Decreto Regulamentar nº20/2008
	Garantir que não são utilizados adornos (exceto aliança), e que as unhas são mantidas curtas, limpas e verniz ou outros produtos.	Regulamento nº 852/2004
	Enfocar a importância de efetuar lavagens frequentes e de modo adequado das mãos. As mãos deverem ser lavadas antes do início dos períodos de serviço, após utilização dos sanitários, sempre que se mude de tarefa e sempre que estas representem risco de contaminação para os GA.	Decreto Regulamentar nº20/2008
	Conferir que todas as feridas ou cortes são mantidas protegidas, através do uso de pensos coloridos e/ou luvas descartáveis.	Regulamento nº 852/2004

Tabela 7 - Pré-requisitos ao sistema HACCP (cont.)

Pré-requisitos	Requisitos a aplicar	Referências
Controlo de Pragas	Aplicar um plano de combate de pragas, com inspeções periódicas no interior e área circundante do estabelecimento, de forma a reduzir o risco de contaminação por parte de ratos, ratazanas, baratas, insetos, animais vadios e outros rastejantes.	Regulamento nº 852/2004
	Conferir que o plano de controlo de pragas é realizado por um técnico devidamente especializado para efeito e que toda a documentação relacionada se encontra disponível no estabelecimento.	ARESP, 2006
Potabilidade da Água	A água destinada a ser bebida, cozinhada, para uso de higiene pessoal, para a preparação de alimentos, para o fabrico, transformação, conservação ou comercialização de produtos para consumo humano, como gelo, ou para qualquer outro fim doméstico deve ser salubre, limpa e não conter nenhum microrganismo, parasita ou substância em quantidade ou concentração que possa originar qualquer tipo de perigo para a saúde humana. Para isso as entidades gestoras asseguram obrigatoriamente um adequado tratamento desta água de modo a dar cumprimento ao estabelecido no diploma que regula a qualidade da mesma.	Decreto-Lei nº 306/2007
	Garantir que o estado da canalização não compromete a qualidade da água, razão pela qual é importante existirem procedimentos de verificação internos.	FDA, 2013
Limpeza e Desinfecção (Planos de Higienização)	Os produtos químicos utilizados nos procedimentos de limpeza devem ser adequados e manuseados com precaução e de acordo com as instruções dos fabricantes, não devendo ser armazenados em áreas onde são manuseados GA.	Regulamento nº 852/2004
	De forma a garantir que os processos de higienização (limpeza + desinfecção) são os mais eficazes, estes devem ser descritos em planos de higienização, nos quais deverão estar descritos as áreas, equipamentos e utensílios a higienizar, a responsabilidade por tarefas específicas, o método e a frequência da limpeza e as medidas de monitorização. De modo a avaliar a adequação e eficácia dos processos de higienização, estes deverão ser continuamente monitorizados e documentados.	CAC, 2003
Instalações, Equipamentos e Utensílios	Devem ser construídas solidamente com materiais duráveis, lisos, não absorventes e que possibilitem a manutenção, limpeza e desinfecção adequadas, e também que evitem a acumulação de sujidades e bolores indesejáveis.	CAC, 2003; Regulamento nº 852/2004

Tabela 7 - Pré-requisitos ao sistema HACCP (cont.)

Pré-requisitos	Requisitos a aplicar	Referências
Instalações, Equipamentos e Utensílios	Construídas segundo o princípio da marcha em frente, no qual os alimentos crus não devem contactar com os cozinhados, os de origem animal com os de origem vegetal e em que os circuitos dos alimentos preparados nunca se cruzam com o dos resíduos alimentares ou louça suja.	Breda, 1998
	A área que compreende as zonas de receção e armazenagem de GA, cozinha, copa e instalações destinadas ao uso do pessoal, deverão ser de acesso reservado ao pessoal do estabelecimento, sendo estritamente proibida a entrada e permanência de animais vivos.	Decreto Regulamentar nº20/2008
	Ventilação e Iluminação	
	Devem possuir ventilação, natural ou mecânica e que não circule de zonas contaminadas para zonas limpas, bem como iluminação podendo ser natural e/ou artificial, sendo que quando existir necessidade de recurso a luz artificial, deve ser elétrica e de intensidade uniforme. No entanto, as lâmpadas deverão estar protegidas em caso de explosão ou quebra e garantir uma intensidade suficiente para os trabalhos ou funções a realizar com os GA.	Regulamento nº 852/2004; Baptista & Antunes, 2005; CAC, 2003
	Teto, Paredes e Pavimento	
	Devem ser mantidos em boas condições, limpos e desinfetados. Deverão ser em materiais lisos, impermeáveis, não absorventes, laváveis, não tóxicos e resistentes à corrosão.	Regulamento nº 852/2004
	O teto e equipamentos neles montados devem ser construídos e preparados por forma a evitar a acumulação de sujidade e reduzir a condensação, o desenvolvimento de bolores indesejáveis e o desprendimento de partículas.	Regulamento nº 852/2004; Baptista & Antunes, 2005
	As paredes devem ser lisas até uma altura adequada às operações. Aconselhável que esta altura seja no mínimo 1,5 metros e que a restante seja de cor clara, de modo a ser facilmente visualizada a sujidade nas superfícies.	Regulamento nº 852/2004; Baptista & Antunes, 2005
	O pavimento deve permitir um escoamento adequado de águas residuais e deve ser construído em material não escorregadio	Regulamento nº 852/2004

Tabela 7 - Pré-requisitos ao sistema HACCP (cont.)

Pré-requisitos	Requisitos a aplicar	Referências
Instalações, Equipamentos e Utensílios	Deve existir um sistema de esgoto adequado ao fim a que se destina e ser projetado e construído de forma a evitar o risco de contaminação. Se os canais de evacuação forem total ou parcialmente abertos, devem ser concebidos de forma a assegurar que não haja fluxos de resíduos de zonas contaminadas para zonas limpas, em especial para zonas onde sejam manuseados alimentos suscetíveis de apresentarem um elevado risco para o consumidor final.	Regulamento nº 852/2004
	Janelas e Portas	
	As janelas e outras aberturas devem ser construídas de modo a evitar a acumulação de sujidade. As janelas que puderem abrir para o exterior, devem estar equipadas com redes de proteção contra insetos, facilmente removíveis para limpeza. Se da sua abertura puder resultar qualquer contaminação, as janelas devem ficar fechadas durante a produção. Se for utilizado vidro nas janelas, este deve ser inquebrável. De modo a que a água da chuva seja afastada das paredes, os peitoris exteriores deverão ter inclinação.	Regulamento nº 852/2004; Baptista & Antunes, 2005
	As portas devem ser lisas, de cor clara, material resistente, imputrescível e não absorvente. Devem poder ser facilmente limpas e desinfetadas. Deve-se ter especial atenção, ao nível de limpeza e desinfeção dos puxadores.	Regulamento nº 852/2004
	As cortinas compostas por tiras plásticas devem ser colocadas de modo a que sejam facilmente removidas e apenas podem ser utilizadas nas entradas para áreas alimentares, ou em áreas de apoio à preparação desde que não abram diretamente para o exterior, ou para áreas de subprodutos, ou outras áreas não-alimentares	Regulamento nº 852/2004
	Filtros	
	Os filtros ou outras partes que necessitem de limpeza ou manutenção devem ser de fácil acesso.	Regulamento nº 852/2004
Equipamentos e Utensílios	Equipamentos e Utensílios	
	Todos os utensílios, aparelhos e equipamentos que entrem em contacto com os alimentos devem ser fabricados com materiais adequados e mantidos em boas condições de arrumação e bom estado de conservação, estar efetivamente limpos e, sempre que necessário, desinfetados de modo a evitar qualquer risco de contaminação.	Regulamento nº 852/2004

Tabela 7 - Pré-requisitos ao sistema HACCP (cont.)

Pré-requisitos	Requisitos a aplicar	Referências
Instalações, Equipamentos e Utensílios	As superfícies das zonas em que os GA são manuseados, nomeadamente as que entram em contacto com os próprios GA, devem ser mantidas em boas condições e devem poder ser facilmente limpas e desinfetadas. Deverão ser utilizados materiais lisos, laváveis, resistentes à corrosão e não tóxicos.	Regulamento nº 852/2004
	Sempre que seja necessário utilizar aditivos químicos para prevenir a corrosão de equipamento e de contentores, deverão ser seguidas as boas práticas de aplicação.	Regulamento nº 852/2004
	O equipamento deve ser concebido e instalado de forma a evitar as contaminações cruzadas e de forma a permitir a sua limpeza adequada, assim como da área circundante. Devem ser estabelecidos e documentados programas de manutenção preventiva. Os equipamentos de inspeção, medição ou ensaio devem ser periodicamente calibrados ou verificados.	Baptista, et al., 2003
	Devem existir lava-mãos em número adequado, equipados com água quente e/ou fria e de acionamento não manual, sempre que possível. Ou em alternativa, deve ser colocada uma torneira de comando não manual na cuba de lavagem da louça, se em zona contínua ou integrada.	Regulamento nº 852/2004; Decreto Regulamentar n.º 20/2008
	Deve existir pelo menos uma máquina de lavar louça, preferencialmente instalada na zona da copa suja.	Decreto Regulamentar n.º 20/2008
	Instalações sanitárias	
	Devem ser em número suficiente, munidas de autoclismo e ligadas a um sistema de esgoto eficaz. Estas instalações não devem dar diretamente para os locais onde se manuseiam os alimentos. Nestes locais, devem existir lavatórios para as mãos e estar equipados com água corrente quente e fria, materiais de limpeza das mãos dispositivos de secagem higiénica.	Regulamento nº 852/2004
	Vestiários	
	A zona de vestiários para os funcionários deverá ser equipada com cacifos individuais, de modo a assegurar que os trabalhadores aí coloquem os seus objetos pessoais, evitando assim o descuido com os mesmos, o que poderá constituir uma fonte de contaminação (física ou biológica) dos alimentos.	Regulamento nº 852/2004;

Tabela 7 - Pré-requisitos ao sistema HACCP (cont.)

Pré-requisitos	Requisitos a aplicar	Referências
Instalações, Equipamentos e Utensílios	Transporte	
	Os veículos de transporte e/ou os contentores utilizados para o transporte de GA, devem ser mantidos limpos e em boas condições, a fim de proteger os GA da contaminação e caso seja necessário, ser capazes de manter os GA a temperaturas adequadas e permitir que essas temperaturas sejam controladas.	Regulamento nº 852/2004
	No caso de o veículo transportar simultaneamente outros produtos para além de GA, deverá existir uma efetiva separação dos produtos.	Regulamento nº 852/2004
Recolha de Resíduos	Devem dispor de contentores de tamanho e em número suficiente e garantir que estes são munidos de tampa de acionamento não manual e que são em material adequado, fáceis de limpar e desinfetar e mantidos em boas condições.	CAC, 2003; Regulamento nº 852/2004
BPH e SA dos GA	Rastreabilidade	
	O controlo dos GA deve ser efetuado à receção. A unidade de restauração deverá possuir uma Lista de Verificação (check-list) para aplicação aquando da entrega de GA, a qual deverá fazer referência, pelo menos, à adequação do veículo de transporte, à higiene do pessoal de entregas, à verificação das datas de durabilidade mínima e de limite de consumo, ao estado das embalagens e à verificação da temperatura dos GA refrigerados e congelados.	Regulamento n.º178/2002; Regulamento nº 852/2004
	Fornecedores	
	A qualidade do produto final é totalmente influenciada pela qualidade dos GA. Para garantir a melhor qualidade, os responsáveis de cada unidade devem desenvolver um programa de avaliação, classificação e seleção dos respetivos fornecedores. Programa esse que deverá ser realizado tendo como base os requisitos relacionados com o licenciamento das instalações, com a implementação de um sistema de segurança alimentar e com o controlo de qualidade efetuado aos produtos.	ARESP, 2006
	Armazenamento e Conservação	
	Os produtos alimentares devem ser arrumados segundo o princípio FIFO – First In, First Out (primeiro a entrar, primeiro a sair) nos locais adequados e apropriados às suas características e isentos de qualquer fonte de contaminação.	Regulamento nº 852/2004

Tabela 7 - Pré-requisitos ao sistema HACCP (cont.)

Pré-requisitos	Requisitos a aplicar	Referências
BPH e SA dos GA	A manutenção da cadeia de frio é fundamental para que não se verifique o desenvolvimento microbiano. Por essa razão, os equipamentos de conservação de alimentos frescos / congelados devem ser adequados, devendo ser mantidos em bom estado de conservação, higiene e limpeza e equipados com sistema de medição da temperatura.	Regulamento nº 852/2004
	Garantir que as temperaturas dos equipamentos são medidas diariamente e de acordo com as necessidades e devidamente registadas.	Regulamento nº 852/2004
	As vitrinas, <i>buffets</i> e <i>self-service</i> devem permitir a salubridade dos alimentos e, o resguardo de insetos ou de outras fontes de contaminação.	Decreto Regulamentar n.º 20/2008
	Os GA quentes devem ser mantidos a temperaturas superiores a 65°C, no seu interior, através do uso de estufa ou banho-maria.	Regulamento nº 852/2004
	Congelação	
	A congelação de produtos frescos só é permitida se for feita em equipamento adequado, que permita ultrapassar, tão rápido quanto o necessário, consoante a natureza do produto, a zona de cristalização máxima, fazendo com que a temperatura do produto em todos os seus pontos e após estabilização térmica, se mantenha sem interrupção a níveis de -12°C ou -18° C, consoante o produto a congelar.	ARESP, 2006
	Descongelação	
	Durante a descongelação, os alimentos devem ser submetidos a temperaturas das quais não resulte um risco para a saúde. Os líquidos de escorrimento resultantes da descongelação, devem ser adequadamente drenados, caso apresentem um risco para a saúde. Como formas possíveis para a descongelação, assinalam-se as seguintes:	Regulamento nº 852/2004
	a) em ambiente refrigerado a uma temperatura inferior a +4°C;	
	b) em água potável corrente a uma temperatura não superior a +21° C num período inferior a 4 horas (o produto não está em contacto direto com a água);	
	c) micro-ondas.	

Tabela 7 - Pré-requisitos ao sistema HACCP (cont.)

Pré-requisitos	Requisitos a aplicar	Referências
BPH e SA dos GA	Desinfecção de Legumes Os legumes, frutos e ervas aromáticas frescas, a consumir crus, devem ser lavados e desinfetadas com produtos adequados e de acordo com as instruções do fabricante.	Regulamento nº 852/2004
	Fritura Deve-se assegurar que o óleo utilizado para frituras não apresenta compostos polares superiores a 25% e que os testes e respetivos resultados do controlo são efetuados. Os óleos dados como resíduo, devem ser guardados em recipientes apropriados e recolhidos por empresa especializada.	Portaria n.º 1135 /95
	Acondicionamento e Embalamento As embalagens e materiais em contacto direto com os GA, não devem constituir fonte de contaminação e devem ser armazenados por forma a não ficarem expostos a risco de contaminação. Todo o material que seja reutilizável deve encontrar-se integro e ser fácil de limpar e desinfetar. Nas operações de acondicionamento e embalagem deve-se ter o maior cuidado, de modo a evitar o contágio dos produtos.	Regulamento nº 852/2004
	Amostras testemunho A recolha de amostras testemunha das refeições servidas é considerada uma boa prática, pois em caso de alguma anomalia, recorre-se à análise desta amostra, de modo a identificar o agente originário da DOA e se foi efetivamente da refeição servida.	Amorim, 2006a

7. Análises Microbiológicas em alimentos prontos a comer

A 11ª Etapa do processo de sistema HACCP pressupõe o estabelecimento de procedimentos de verificação de modo a averiguar o nível de adequabilidade das medidas aplicadas, bem como o nível de cumprimento dos requisitos de HSA promotores da garantia da salubridade dos alimentos a comercializar. Assim, o objetivo da realização de análises microbiológica de alimentos prontos a comer, consiste em assegurar a inocuidade e a salubridade dos alimentos e em possibilitar a atuação na prevenção de possíveis DOA (Santos et al., 2005; Bryan, 2002).

De acordo com Santos et al. (2005), para a interpretação dos resultados analíticos, recorre-se a critérios microbiológicos pré-estabelecidos, sendo estes de três tipos:

- Leis e regulamentos – são de cumprimento obrigatório, aplicados pelas autoridades nacionais, levando à aplicação de sanções;
- Especificações microbiológicas – revestem a forma de um acordo contratual, são utilizadas em trocas comerciais e pretendem garantir a qualidade e segurança do produto, até à data limite de consumo;
- Valores guia – constituem linhas de orientação para a avaliação da qualidade microbiológica dos produtos, servem para identificar situações que requerem monitorização, com o objetivo de garantir o cumprimento das boas práticas de fabrico.

Porém, a legislação portuguesa é omissa, no que se refere à existência de critérios microbiológicos, para a grande maioria dos produtos prontos a comer. Por este motivo, os Laboratórios de Microbiologia dos Alimentos do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, como resultado de visitas periódicas a unidades de restauração coletiva ao longo dos anos, estabeleceram “Valores guia para alimentos prontos a comer, preparados em estabelecimentos de restauração coletiva”, de modo a ser possível a apreciação de resultados analíticos (Anexo 3) (Santos et al., 2005).

A criação de limites e valores de referência para as determinações microbiológicas, permitiram o estabelecimento de quatro níveis de “Qualidade Microbiológica de alimentos cozinhados prontos a comer”, conforme mostra a tabela 8 (Santos et al., 2005):

Tabela 8 - Níveis de Qualidade Microbiológica de alimentos cozinhados prontos a comer (Fonte: Santos et al., 2005)

Níveis de Qualidade	Significado
Satisfatório	Resultados analíticos indicam uma boa qualidade microbiológica
Aceitável	Resultados analíticos indicam que o produto se encontra dentro dos limites estabelecidos
Não satisfatório	Resultados analíticos indicam que o produto não satisfaz um ou mais dos valores estabelecidos;
Inaceitável/ potencialmente perigoso	Resultados analíticos indicam a presença de microrganismos patogénicos ou toxinas que poderão constituir um risco para a saúde.

Permitiu ainda, agrupar os alimentos prontos a comer, de acordo com o tipo de ingredientes, em três grandes grupos distintos, abaixo descritos na tabela 9 (Santos et al.,2005):

Tabela 9 – Grupos de alimentos prontos a comer (Fonte: Santos et al., 2005)

Grupo	Tipo de ingredientes
Grupo 1	Refeições/ sandes/ bolos/ sobremesas doces com ingredientes totalmente cozinhados, ou adicionados de especiarias, ervas aromáticas secas, desidratadas ou tratadas por radiação ionizante, de produtos UHT e de maionese industrializada.
Grupo 2	Refeições/ sandes/ bolos/ sobremesas doces cozinhadas adicionadas de ingredientes crus e/ ou com flora específica própria.
Grupo 3	Saladas/ vegetais/ frutos crus

II. MATERIAIS E MÉTODOS

1. Amostras

Neste estudo, foram analisadas na sua totalidade, 1903 amostras de GA prontos a comer, provenientes de unidades de restauração pública, localizadas essencialmente na região centro (Leiria, Torres Novas, Figueira da Foz, Caldas da Rainha, Ourém, Fátima, Pombal, Coimbra, Mealhada e Torres Vedras).

As amostras foram colhidas nestas unidades, ao longo dos últimos 7 anos, mais precisamente, durante os anos de 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011 e 2012.

Na tabela 10 pode observar-se o número de análises efetuadas, em cada ano de estudo.

Tabela 10 – Quantidade de análises realizadas, em cada Ano

Ano	Nº de amostras
2006	43
2007	180
2008	175
2009	243
2010	420
2011	533
2012	309
Total	1903

A tabela 11 apresenta o número de análises efetuadas em cada grupo de alimentos, durante o período de tempo em estudo.

Tabela 11– Quantidade de análises realizadas, em cada Grupo

Grupos	Nº de amostras
Grupo 1	1335
Grupo 2	343
Grupo 3	225
Total	1903

As amostras foram colhidas respeitando a metodologia descrita na Norma Portuguesa 1828:1982. Após a colheita, as amostras foram transportadas e entregues no Laboratório Tomáz para a devida análise, obedecendo aos requisitos expressos na Norma ISO 7218:2007. Este laboratório encontra-se sediado em Leiria e possui o estatuto de laboratório com ensaios acreditados pelo Instituto Português de Acreditação (IPAC).

2. Análises Microbiológicas

2.1. Pesquisa de *Listeria monocytogenes*

A Pesquisa de *L. monocytogenes* foi efetuada de acordo com a norma ISO 11290-1:1996/Amd1:2004. A sua aplicação consiste em, a partir de 25 g de amostra, efetuar um enriquecimento primário no meio Fraser Demi (1/2) (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha) que é incubado a $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$. Após o período de incubação, com o auxílio de uma ansa esterilizada, inocularam-se meios seletivos Compass Listeria Agar (Bio-Rad Laboratories, Inc, Hercules, EUA) e Rapid L'mono (Biokar DiagnosticsTM, Beauvais, França), que se incubaram a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 48 h. Paralelamente, foi feita uma repicagem de 0,1ml para Meio Fraser, enriquecimento secundário, que foi incubado a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 48 h. Por fim, foi efetuado outro isolamento nos mesmos meios seletivos, mediante sementeira por estria à superfície, os quais foram a incubar nas condições já descritas. Estes meios de cultura permitem a deteção de β -glucosidase, que atua sobre um substrato cromogénico, fazendo desta forma a identificação presuntiva do género *Listeria*. As colónias características de *L. monocytogenes* apresentam-se azuis e com um halo opaco, o que as distingue das outras espécies pertencentes a este género e cuja formação está relacionada com a atividade de uma fosfolipase (figura 4). A seletividade dos meios de enriquecimento é conseguida pelo cloreto de lítio, acriflavina e o ácido nalidíxico, enquanto a seletividade do meio sólido é conferida pela ação combinada do cloreto de lítio e dos antibióticos (ácido nalidíxico, ceftazidima e polimixina B).

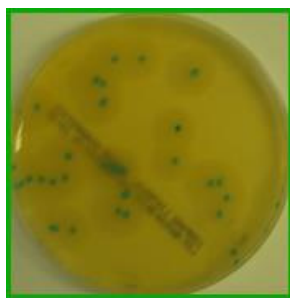


Figura 4: Colónia característica de *Listeria monocytogenes* (Fonte: Santos, 2009)

Foram passadas para o meio de isolamento não seletivo *Tryptone Soya Agar* (TSA) (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha), as colónias presuntivas de *L. monocytogenes* sendo posteriormente sujeitas ao teste de pesquisa de catalase, teste de hemólise no

meio *Columbia Agar com 5 % Sheep Blood* (COS) (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha) e sistema VITEK[®]. Este é um sistema automatizado que permite a identificação rápida de bactérias (bioMérieux[®] SA, Marcy l'Étoile França). Foram consideradas positivas as colónias catálase positiva, hemólise positiva e com identificação de *Listeria* no sistema VITEK[®].

2.2. Pesquisa de *Salmonella* spp

A pesquisa de *Salmonella* spp. desenvolveu-se mediante a norma ISO 6579:2002. A partir de 25 g de amostra, efetuou-se um pré-enriquecimento com *Buffer Peptone Water* (APT) (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha), que foi incubada durante $18 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ a $37 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$.

Este pré-enriquecimento tem como objetivo a ressuscitação de microrganismos, que possam estar presentes em baixo número ou, que tenham sofrido algum dano durante processos de processamento ou conservação dos alimentos.

Procedeu-se a um enriquecimento seletivo, inoculando 0,1 ml do pré-enriquecimento em caldo *Rappaport Vassiliadis Soja* (RVS) (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha), e 1 ml em caldo *Muller-Kauffmann* com tetracionato e novobiocina (MKTT) (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha) que foram incubados durante $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$, a $41,5 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$ e $37 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$, respetivamente.

O caldo RVS é utilizado para o enriquecimento seletivo, pois possui peptona de soja o que irá permitir uma melhor estabilidade do pH, bem como cloreto de magnésio que fará diminuir o efeito tóxico do verde malaquite, conferindo uma melhor recuperação de *Salmonella* spp. Quanto ao caldo MKTT, contém sais biliares e verde brilhante, que inibem o desenvolvimento das bactérias Gram positivas. A produção de tetracionato resultante da ação da solução de iodo-iodeto no tiosulfato de sódio irá inibir as bactérias coliformes e a maioria das bactérias intestinais.

A partir dos meios de enriquecimento foi efectuado isolamento nos meios de cultura seletivos *Xylose Lysine Deoxycholate* (XLD) e Chromagar *Salmonella* (ambos Biokar DiagnosticsTM, Beauvais, França), os quais foram a incubar a $37 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$ durante $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$.

As bactérias do género *Salmonella*, no meio XLD, são diferenciadas dos outros microrganismos, devido à sua capacidade de fermentar a xilose, e posteriormente, descarboxilar a lisina (via lisina-descarboxilase), causando uma subida no pH, tornando

o meio básico. As colónias formadas apresentam-se vermelhas na presença do indicador vermelho fenol. A produção de sulfureto de hidrogénio (H_2S) ajuda na diferenciação de *Salmonella*, formando colónias com centros negros. As espécies que fermentam um dos três açúcares contidos no meio originam colónias amarelas ou laranjas. O desoxicolato de sódio inibe a flora Gram positiva contaminante. O meio Chromagar Salmonella é um meio cromogénico no qual a diferenciação de *Salmonella* (incluindo estirpes lactose +) se baseia na produção da enzima esterase que confere uma coloração rosa pálida a roxo às colónias desta bactéria.

As colónias suspeitas de *Salmonella* spp. foram repicadas para o meio de *Triple Sugar Iron* (TSI) e Nutriente Agar (NA), meio não seletivo a partir do qual se efetuaram os testes de confirmação. Os tubos e placas foram incubados a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$. O TSI é utilizado para a identificação de enterobactérias pela rápida deteção através da fermentação da lactose, glucose (com ou sem produção de gás) e sacarose, bem como a produção de sulfureto de hidrogénio (precipitado negro). A fermentação dos hidratos de carbono é detetada pela presença de gás e pela alteração de cor visível (de vermelho para amarelo) do indicador de pH, vermelho fenol. Findo o período de incubação, se o meio TSI for suspeito de *Salmonella* spp., a partir do NA é efetuada a identificação no sistema VITEK[®] (bioMérieux[®] SA, Marcy l'Étoile França).

2.3. Quantificação de *Staphylococcus* coagulase positiva

Para se proceder à quantificação de *Staphylococcus* coagulase positiva recorreu-se à aplicação da norma ISO 6888-1:1999, a qual determina que após preparação da suspensão inicial, sejam efetuadas sementeiras por espalhamento à superfície, para placas com meio de cultura *Baird-Parker* (BP) (Oxoid[™], Cambridge, UK) que vão a incubar a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante $48\text{ h} \pm 2\text{ h}$.

O BP é um meio seletivo, que contém uma base nutritiva rica em três peptonas, glicina e piruvato de sódio, cujo papel é estimular o crescimento das estirpes. Tem como finalidade, detetar a capacidade que os estafilococos têm para reduzir o telurito a telureto e de detetarem a lecitinase, pela ação proteolítica sobre a lecitina do ovo.

A glicina, o cloreto de lítio e o telurito de potássio atuam como agentes seletivos, inibindo a microflora contaminante. O enriquecimento com gema de ovo ajuda na identificação, mostrando a ação da lecitinase. As colónias suspeitas de *Staphylococcus* coagulase positiva aparecem cinzento-escuro a preto, devido à redução de telurito e

rodeadas por um halo claro, devido à proteólise da gema de ovo. Dentro deste halo claro pode aparecer um halo opaco, devido à ação de uma lipase.

Seguidamente, as colónias suspeitas (negras, com halo transparente) foram repicadas para caldo *Brain-Heart Infusion* (BHI) (OxoidTM, Basingstone, Hampshire, UK), incubando-se novamente a $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ durante $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$, de modo a proceder-se à confirmação bioquímica. A partir deste foi efetuada a prova da coagulase com plasma de coelho liofilizado (Biokar DiagnosticsTM, Beauvais, França), a qual permite detetar a coagulase, que é uma enzima capaz de coagular o plasma sanguíneo. A presença desta enzima é considerada o principal factor na determinação da patogenicidade de estafilococos. Em teste efetuado em tubo, verifica-se a presença da coagulase através da formação de um coágulo no plasma, indicativo de uma reação positiva.

Por fim, procedeu-se à quantificação de *Staphylococcus* coagulase positiva presentes na placa, sendo os resultados expressos em unidades formadoras de colónias por grama de alimento (ufc/g).

2.4. Quantificação de *Escherichia coli*

A quantificação *Escherichia coli* decorreu segundo a ISO 16649-2:2001, que envolve a preparação da suspensão inicial, sementeira por incorporação de 1 ml de cada diluição, em meio de cultura *Tryptone Bile XGlucuronide* (TBX), que é um meio seletivo para *E. coli* β -D-glucuronidase positiva em produtos alimentares, ao que se segue a incubação, por um período máximo de 24 h a $44\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$.

Este meio contém um substrato cromogénico, o ácido 5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-glucurónico (BCIG) e é seletivo em relação a Gram positivos e flora interferente, através da ação combinada da alta temperatura de incubação e presença de sais biliares. A maioria das estirpes de *E. coli* possui uma enzima, a β -D-glucuronidase, que quebra o BCIG, fazendo com que as colónias se tornem azuis.

O resultado é obtido diretamente pela contagem das colónias características, as de cor azul, não sendo necessário nenhum passo de confirmação. Os resultados são expressos em ufc/g.

2.5. Quantificação de Microrganismos a 30°C

A quantificação de Microrganismos a 30°C foi efetuada de acordo com a norma ISO 4833:2003.

A partir da suspensão inicial e das diluições decimais sucessivas, foi efetuada a sementeira, por incorporação de 1 ml de cada diluição no meio de cultura sólido *Plate Counte Agar* (PCA) (Biokar DiagnosticsTM, Beauvais, França), sendo as placas colocadas posteriormente a incubar a 30 °C ± 1 °C durante 72 h ± 3 h.

O PCA é um meio nutritivo, constituído por peptona de caseína (bovino), extrato de levedura, glucose e agar, o qual permite o crescimento da maior parte dos microrganismos que crescem a 30 °C em aerobiose, apresentando-se estes de cor clara.

Por fim, procede-se à contagem das colónias desenvolvidas, sendo posteriormente os resultados expressos em ufc/g.

3. Análise e Tratamento de dados

Com os resultados analíticos, foi construída uma tabela com recurso ao software Microsoft Office Excel 2010, na qual foram reunidos todos os dados obtidos, ao longo dos 7 anos de estudo. Nesta tabela, em função do grupo (Grupo 1; Grupo 2; Grupo 3; conforme indicado na tabela 9), por amostra, foi indicado o ano da colheita, o nome do produto colhido, o tipo de amostra, a data de colheita, data de emissão do relatório de ensaio, parâmetro analisado e respetivo resultado obtido na análise. Posteriormente, para cada resultado obtido, foi efetuada a sua classificação (conforme tabela 8), de modo a ter todos os dados preparados, para se desenvolver o devido tratamento estatístico dos resultados obtidos.

A análise estatística dos dados foi realizada com recurso ao software IBM SPSS Statistics v21.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Apresentação e Discussão dos Resultados das Análises Microbiológicas

Foram avaliadas 1903 amostras na totalidade, ao longo dos 7 anos de estudo, as quais foram agrupadas (grupo 1, grupo 2 e grupo 3), conforme a classificação atribuída pelos Valores guia publicados pelo INSA referida na tabela 9.

Das 1903 amostras analisadas durante o período de tempo em estudo, é de realçar que a quantidade é variável de ano para ano. Verifica-se que 2006 foi o ano em que foram processadas menos amostras (43, o que representa 2% da totalidade) e que 2011 foi o ano que se verificou o maior pico (533, ou seja, 28% da totalidade). Ao longo dos 7 anos de estudo, a quantidade de amostras foi aumentando, à exceção de 2012 (último ano de estudo), no qual se verificou uma baixa considerável face aos dois anos anteriores (309 análises, cerca de 16 %). A figura 5 mostra a quantidade de amostras analisadas em cada ano e respectiva percentagem, enquanto na figura 6 pode observar-se a evolução do número de amostras analisadas ao longo dos anos.

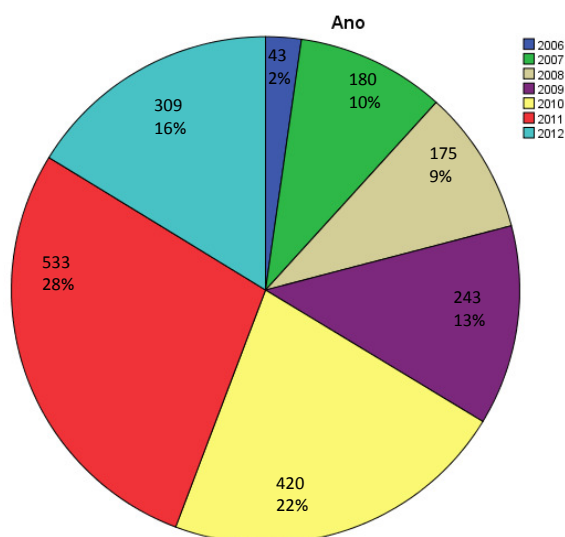


Figura 5: Frequência do número de amostras processadas, em cada ano de estudo

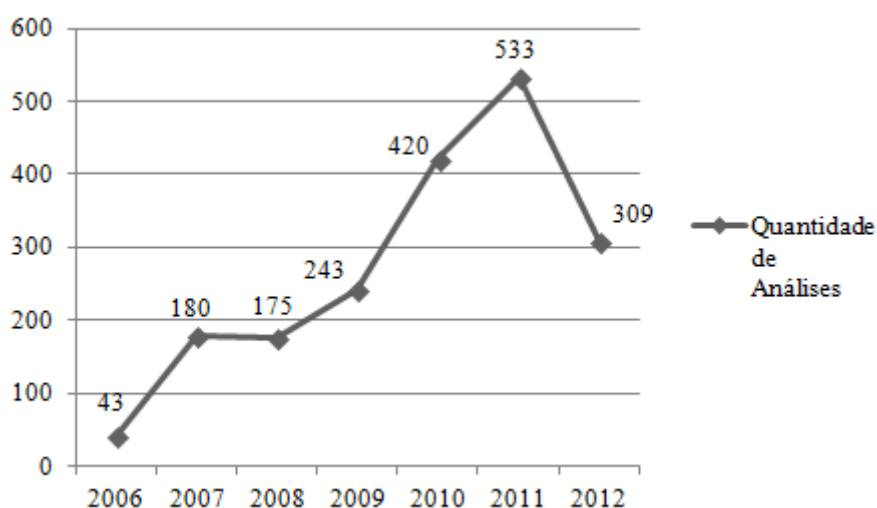


Figura 6: Evolução do número de amostras, ao longo dos anos

Estes valores podem ser explicados pelo facto de, em 2006, ter entrado em vigor o Regulamento (CE) n.º 853/2004, relativo à Higiene dos GA, impondo a obrigação sobre todos os agentes económicos que intervêm na cadeia alimentar, de aplicarem medidas que assegurem a comercialização e o consumo de alimentos seguros, com base nos princípios do sistema HACCP e assim, assegurarem a HSA. O desconhecimento deste diploma, ou o desconhecimento e/ou inexperiência sobre o sistema HACCP e a sua metodologia de aplicação, explicam o facto de poucos operadores terem a preocupação de avaliarem as condições higiénicas e de segurança dos seus produtos, sendo que apenas 43 amostras deram entrada no laboratório.

Com o passar dos anos, face à passagem de informação, sensibilização e formação dos operadores do sector, aumentando assim o seu conhecimento sobre os requisitos legais aplicáveis, o número de análises foi aumentando até 2011.

Em 2012 o número de amostras analisadas decresceu. Tal facto pode ser explicado pelo número de estabelecimentos de restauração pública que encerraram, ou por, face à crise económica que se instalou a nível nacional, os agentes económicos terem decidido reduzir o volume de análises de controlo microbiológico dos seus produtos.

No que respeita à quantidade de amostras por grupo de alimento pronto a consumir (figura 7), verifica-se que a maioria pertence ao grupo 1, cerca de 1335, o que representa 70 % do total de amostras analisadas, pois este grupo inclui os produtos que caracterizam o prato principal, tomado na refeição de almoço e jantar na dieta mediterrânea de um adulto, sendo também o principal serviço prestado num

estabelecimento de restauração e bebidas, e como tal, é de extrema importância a sua verificação em termos de controlo de HSA.

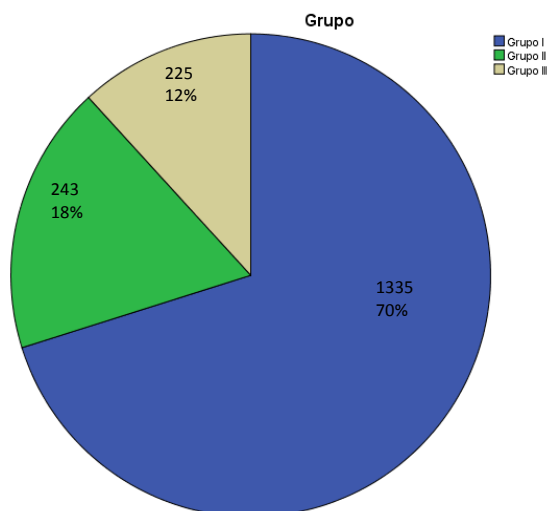


Figura 7: Frequência do número de amostras processadas, por grupo de alimentos

1.1. Microrganismos Patogénicos

1.1.1. Pesquisa de *Listeria monocytogenes*

Conforme demonstra a figura 8, nas 1903 amostras de pratos prontos a consumir analisadas, foram efetuadas 663 pesquisas de *L. monocytogenes*. Das 663 pesquisas desenvolvidas, verifica-se que 361 (54,40%) foram a produtos do grupo 1, 144 (21,70%) a produtos do grupo 2 e 158 (23,80%) a produtos de grupo 3.

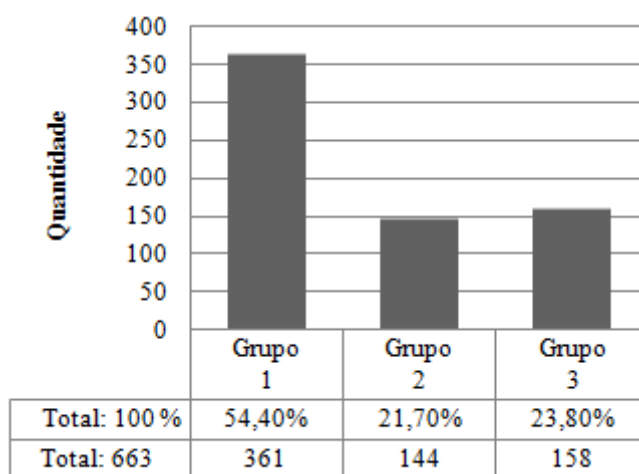


Figura 8: Número de amostras e distribuição por grupos, nas quais foi efetuada a pesquisas de *L. monocytogenes*

Das 663 pesquisas de *L. monocytogenes* concretizadas, verificou-se que 654 das amostras, correspondentes a 98,6 %, revelaram ausência de *L. monocytogenes*, sendo por conseguinte classificadas com satisfatórias.

Porém, em 9 amostras, o que representa uma incidência de 1,4%, foi detetada a presença de *L. monocytogenes*, tal como evidência a figura 9. Da sua análise, resulta que não é possível classificar estas amostras pelos valores guia, visto que não foi efetuada contagem e não é possível saber qual o nível em que este microrganismo se encontrava. Mas se avaliarmos pelo Regulamento (CE) 1441:2007, verificamos que se não for possível que o operador do sector alimentar consiga garantir um nível $<10^2$ ufc/g no momento do consumo, então tem que garantir a ausência e neste caso estas amostras serão insatisfatórias.

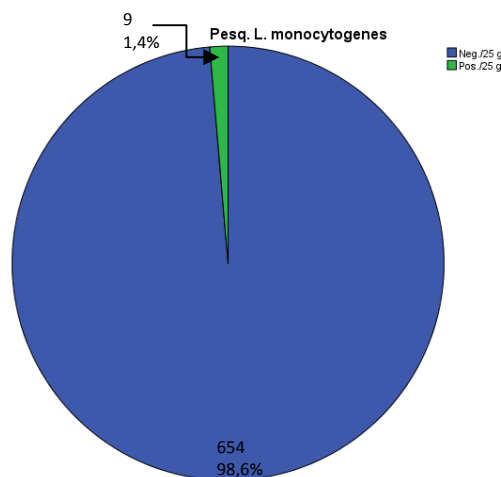


Figura 9: Resultados da pesquisa de *Listeria monocytogenes*

Com base na figura 10, que mostra a frequência dos resultados por grupos de alimentos, verifica-se que das 654 amostras analisadas onde se verificou a ausência de *L. monocytogenes*, 359 (54,10%) pertenciam a alimentos do grupo 1, 144 amostras (21,70%) são do grupo 2 e 151 amostras (22,80%) são do grupo 3. Já no caso das 9 amostras que se revelaram positivas, 2 (0,30%) são provenientes de produtos do grupo 1 e 7 amostras (1,10%) correspondem a produtos do grupo 3. Em amostras do grupo 2 não se verificaram quaisquer valores positivos, ou seja, obtiveram-se 0 amostras positivas (0,00%).

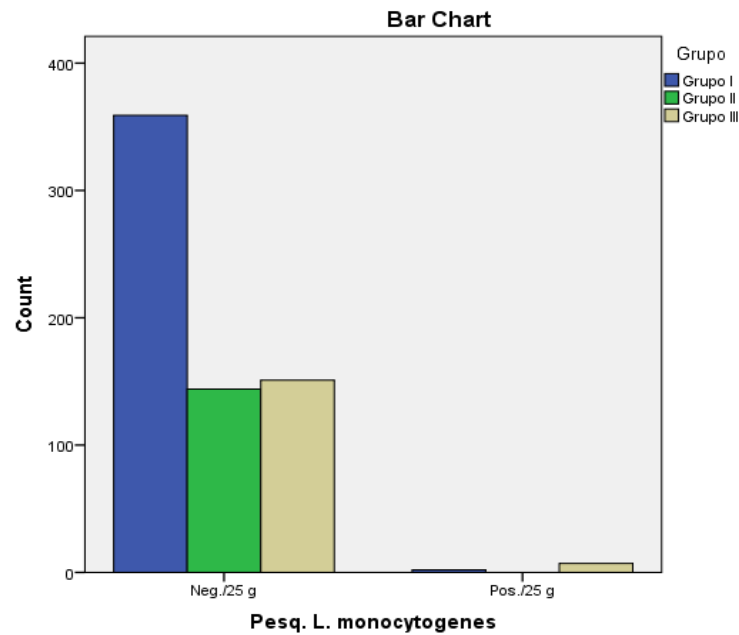


Figura 10: Frequência dos resultados da pesquisa de *L. monocytogenes*, em cada grupo de alimento

As 2 amostras do grupo 1, nas quais se detetou a presença de *L. monocytogenes*, uma delas surgiu em 2007, numa refeição de arroz de pato e a outra, foi em 2010, num prato de carne assada no forno. As restantes 7 amostras são pertencentes a produtos do grupo 3 (produtos crus), tendo sido no ano de 2012 que se obteve o maior número de amostras positivas neste tipo de produtos, 3 casos positivos. Em 2008 obtiveram-se 2 casos positivos de *L. monocytogenes*, assim como em 2010, tal como demonstra a figura 11.

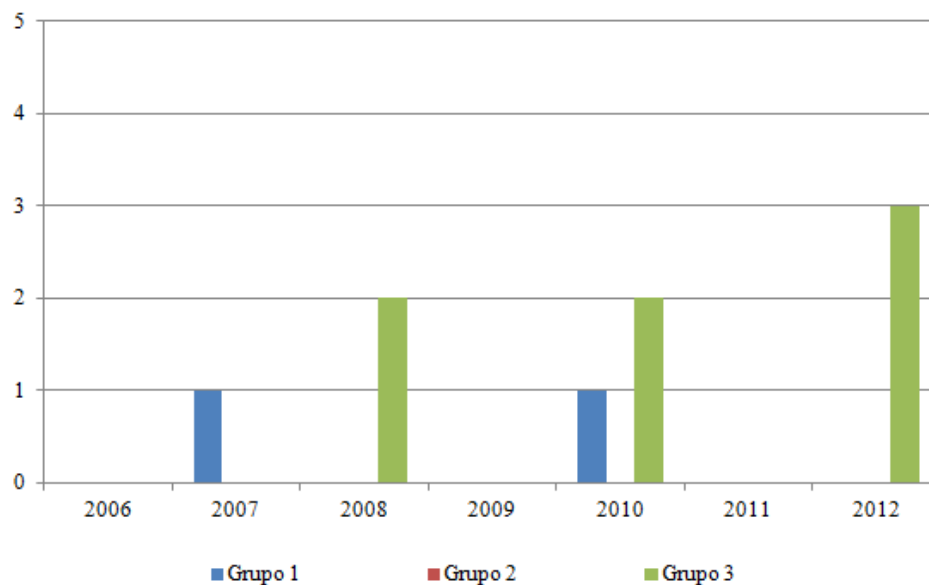


Figura 11: Incidência temporal dos casos positivos obtidos na pesquisa a *L. monocytogenes*, em cada grupo de alimento

Na discussão destes resultados ressalta que, tendo em conta que os GA pertencentes ao grupo 1 são totalmente cozinhados, a presença deste microrganismo indica ocorrência de contaminação cruzada ou temperatura de processamento inadequada. Os alimentos em causa são carne assada no forno, que foi cortada após o tratamento térmico e arroz de pato, prato que apresenta bastante manipulação e é sujeito a tratamento térmico após essa manipulação, o que justifica o desrespeito pelas práticas de HSA.

Já no que se refere aos alimentos do grupo 3, eram todos constituídos por saladas cruas, o que indica má higienização destes produtos e/ou mau acondicionamento após a sua preparação. Este microrganismo possui a particularidade de se multiplicar a baixas temperaturas e caso estes produtos, entre o término da sua preparação e o seu consumo, não forem reservados num sistema de conservação de produtos frescos a temperaturas entre 0 °C e 3 °C e, ficarem sim expostos à temperatura ambiente, estamos a proporcionar a sua presença no momento do consumo e como tal a arriscar a ocorrência de danos sobre a saúde dos consumidores.

Se compararmos os nossos resultados com outros publicados, verificamos que os resultados são igualmente baixos. Um estudo realizado por Framegas (2012), em restauração pública e coletiva, não encontrou nenhuma amostra positiva, bem como Fernandes (2014). De igual modo, Sospedra, Rubert, Soriano & Mañes (2013), num estudo realizado em amostras de produtos prontos a consumir de origem vegetal em restaurantes públicos, não encontraram nenhuma amostra positiva. Um outro estudo efetuado por Legnani, Leoni, Berveglieri, Mirolo, & Alvaro, (2004) efetuado em restauração coletiva, encontrou valores idênticos aos encontrados no presente trabalho, tendo sido 1,3% as amostras positivas para esta bactéria, visto que em 298 amostras de alimentos comparáveis aos nossos grupos 1, 2 e 3 encontraram 4 amostras positivas.

1.1.2. Pesquisa de *Salmonella* spp.

As análises de pesquisa de *Salmonella* spp. foram desenvolvidas em 998 amostras de produtos prontos a consumir (num total de 1903 amostras), nas quais 761 pesquisas (76,30%) foram efetuadas a pratos prontos a consumir do grupo 1, 150 pesquisas (15,00%) são referentes a produtos do grupo 2 e 87 pesquisas (8,70%) foram desenvolvidas em produtos prontos a consumir do grupo 3, como mostra a figura 12.

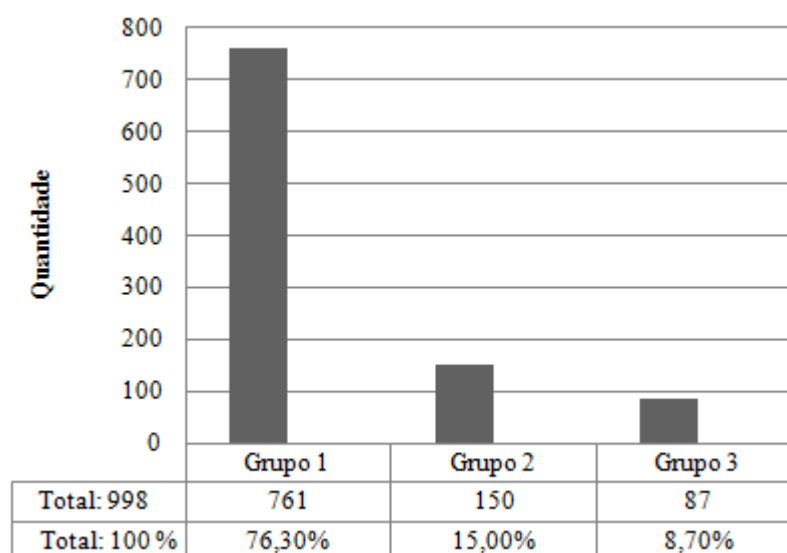


Figura 12: Número de amostras e distribuição por grupos nas quais foi efetuada a pesquisa de *Salmonella* spp.

Entre as 998 pesquisas de *Salmonella* spp. realizadas, verificou-se que apenas 1 amostra apresentou resultado positivo, o que representa 0,10% dos resultados. As restantes 997 amostras analisadas (99,90%), revelaram a ausência de *Salmonella* spp., tal como evidência a figura 13, razão pela qual podem ser consideradas satisfatórias.

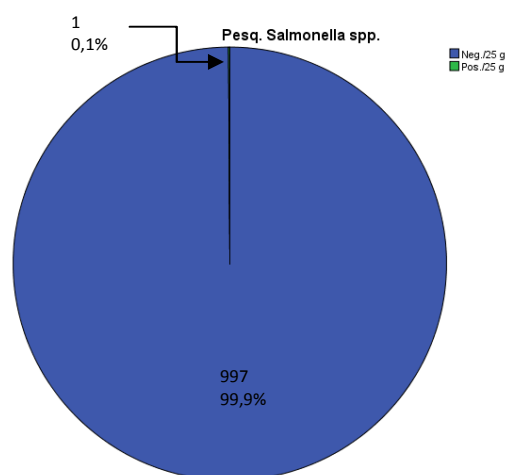


Figura 13: Resultados da pesquisa de *Salmonella* spp.

Nas 997 pesquisas de *Salmonella* spp., em que se observou a ausência deste microrganismo patogénico, como se pode verificar pela observação da figura 14, 760 amostras (76,20%) são referentes a produtos prontos a comer do grupo 1, 150 (15,00%) são de produtos do grupo 2 e 87 (8,70%) correspondem a produtos prontos a comer pertencentes ao grupo 3.

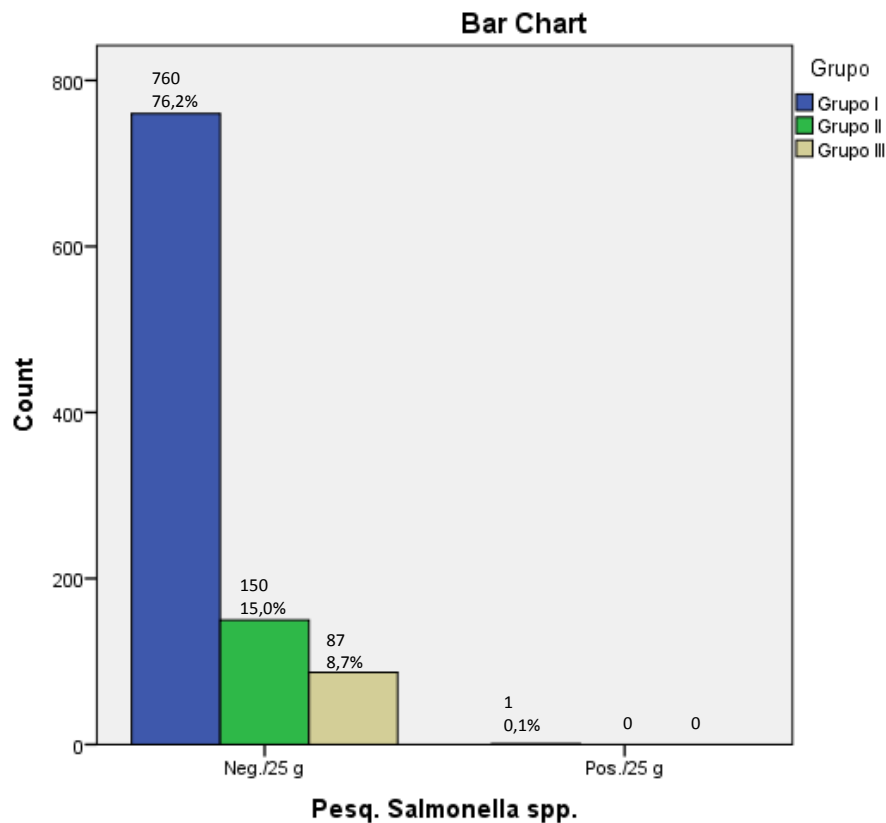


Figura 14: Frequência dos resultados da pesquisa a *Salmonella* spp., em cada grupo de alimento

A única amostra cujo resultado se revelou positivo, foi de um prato pronto a consumir do grupo 1 (produto completamente cozinhado), mais concretamente, uma amostra de feijoadada, analisada em 2010 (figura 15).

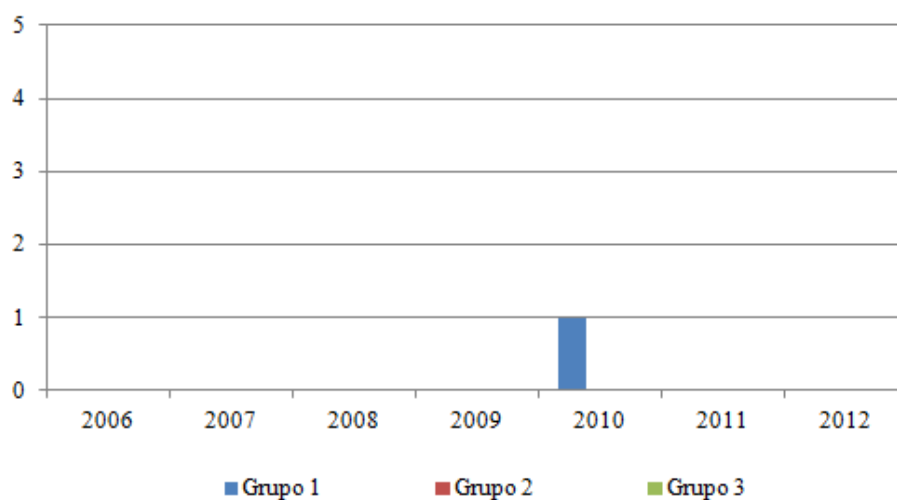


Figura 15: Incidência dos casos positivos de *Salmonella* spp., por grupo de alimento

Esta amostra é classificada como inaceitável/potencialmente perigosa. Este resultado evidencia a ocorrência de falhas de HSA, durante o seu processo de preparação e confeção. A feijoada é um prato caracterizado por ser muito rico em diversas carnes, sobretudo carne de porco e enchidos, bem como de legumes, todos estes produtos altamente potenciais de estarem contaminados com esta bactéria patogénica, enquanto matérias-primas. A sua preparação envolve grande manipulação dos alimentos, o que potencia a ocorrência de contaminações cruzadas durante o processo. Por outro lado, caso a confeção destes produtos não seja efetuada convenientemente, pode implicar a permanência da *Salmonella* spp. no prato de refeição e por conseguinte, causar DOA no consumidor aquando do seu consumo. A adição dos enchidos, por norma, dá-se no final do processo de confeção da feijoada, o que pode implicar que o tempo/temperatura, aplicado posteriormente, possa ser insuficiente para eliminar a bactéria presente.

A percentagem de positividade encontrada, foi bastante baixa. Comparando com a literatura, verificamos que Legnani, et al. (2004), bem como Alves & Ueno (2010), Framegas (2012), Sospedra et al. (2013) e Fernandes (2014) não encontraram nenhuma amostra positiva. Pelo contrário, Isara, Isah, Lofor & Ojide (2010), encontraram em restaurantes de *fast food*, *Salmonella* Typhimurium em 11,1% das amostras, enquanto *Salmonella* Typhi foi isolada em 3 amostras, correspondendo a 4,8%. Esta diferença de valores, pode ser explicada pelo facto deste estudo ter sido realizado na Nigéria, onde as BPH e SA estão menos implementadas do que na UE.

1.1.3. Quantificação de *Staphylococcus* coagulase positiva

A presença de níveis insatisfatórios de *Staphylococcus* coagulase positiva, poderá indicar falta de higiene pessoal dos manipuladores de alimentos envolvidos na preparação dos alimentos e/ou um mau controlo das temperaturas de armazenagem / exposição. De acordo com Soriano, Font, Molto, & Manes (2002), a intoxicação estafilocócica resulta do consumo de um alimento, no qual os *Staphylococcus* tiveram a oportunidade de se multiplicarem e produzirem enterotoxina.

No processo de quantificação de *Staphylococcus* coagulase positiva, verificou-se que das 1903 amostras globais desenvolvidas, procedeu-se à quantificação deste microrganismo em 1741 amostras, tendo-se obtido em 1706 amostras (89,6%) resultados satisfatórios, em 33 (1,9%) resultados não satisfatórios e em 2 amostras

(0,1%) foram classificadas como potencialmente perigosas, assim como demonstra a figura 16.

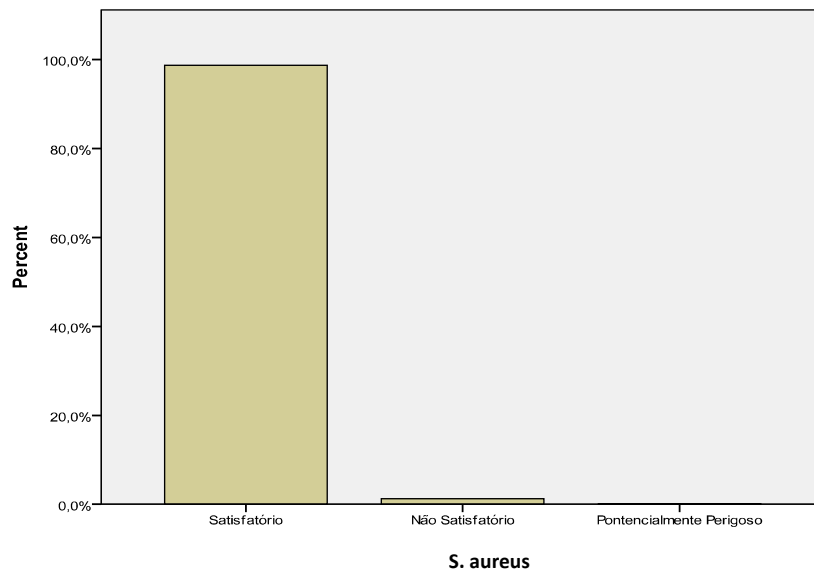


Figura 16: Frequência dos resultados da quantificação de *Staphylococcus* coagulase positiva

Atendendo à figura 17, verifica-se que das 1741 análises efetuadas, 1185 (68,10%) análises foram concretizadas em produtos prontos a consumir do grupo 1, 338 análises (19,40%) foram a produtos do grupo 2 e 218 análises (12,50%) a produtos do grupo 3.

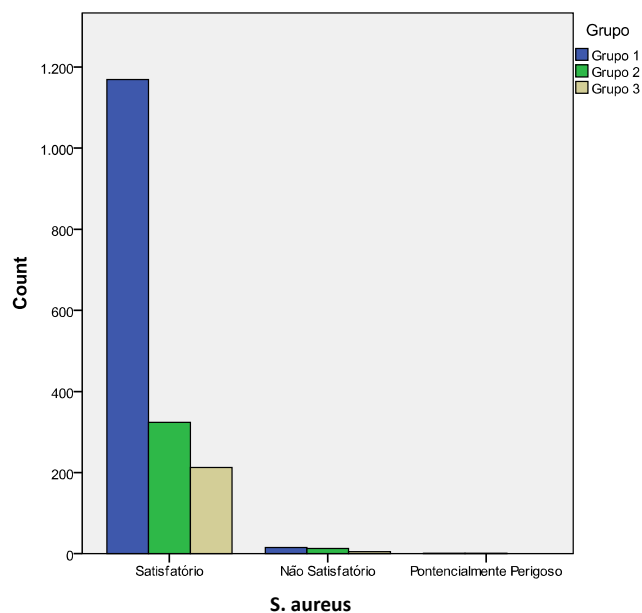


Figura 17: Frequência dos resultados da quantificação de *Staphylococcus* coagulase positiva, por grupo de alimento

As análises efetuadas a produtos do grupo 1, revelam que 1169 (67,10%) das amostras são satisfatórias, 15 (0,90%) das amostras revelaram-se não satisfatórias e que 1 amostra (0,10%) de produto pronto a consumir, encontrava-se potencialmente perigosa para a saúde dos consumidores. As análises realizadas a produtos do grupo 2, 324 (18,60%) mostravam-se satisfatórias, 13 análises (0,70%) encontravam-se não satisfatórias e 1 amostra (0,10%) manifestou-se potencialmente perigosa para a saúde dos consumidores, atingindo níveis capazes de produzir quantidade de toxina com capacidade para provocar intoxicação. Relativamente aos produtos analisados pertencentes ao grupo 3, verificou-se que 213 amostras (12,20%) estavam satisfatórias, 5 (0,30%) análises revelaram-se não satisfatórias e nenhuma amostra se manifestou ser potencialmente perigosas para consumo. Realça-se que os dois casos em que se obtiveram valores que definem as amostras como potencialmente perigosas, um prato do grupo 1, manteiga (em 2007) e outro do grupo 2, bolo de aniversário (em 2009). A figura 18 representa a classificação das amostras ao longo dos anos, para os resultados da quantificação de *Staphylococcus* coagulase positiva, nos grupos 1, 2 e 3.

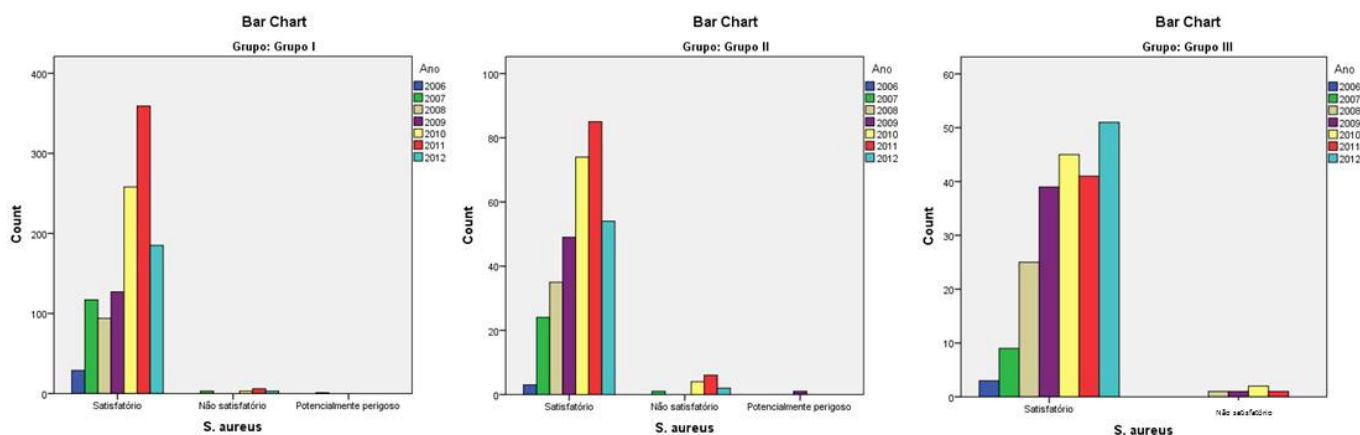


Figura 18: Incidência temporal da qualificação das amostras para a quantificação de *Staphylococcus* coagulase positiva, em cada grupo de alimento

Da observação da figura ressalta que, em 2006 todos os resultados foram satisfatórios nos 3 grupos em estudo. E nos outros anos, o predomínio é também dos resultados satisfatórios. Tal como já referido, em 2007 e 2009, obteve-se no grupo 1 e no grupo 2 respetivamente, uma amostra qualificada como potencialmente perigosa. Estes dois casos, podem dever-se a situações extremas de contaminação cruzada, erros na manipulação dos GA nas diferentes etapas da preparação dos pratos e/ou má higiene por parte dos manipuladores ou alguma situação de doença em algum dos operadores. Dado que

os humanos são os portadores naturais de *Staphylococcus aureus* no nariz, garganta e pele, a maior parte dos surtos resulta da contaminação do alimento durante a sua preparação pelo próprio manipulador (Pereira *et al.*, 1994; Asao *et al.*, 2003).

Pela observação dos dados, pode ser considerado que, em termos gerais, os resultados obtidos evidenciam o cumprimento das BPH e SA, principalmente as BPH pessoal por parte dos manipuladores de alimentos.

As contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva variaram entre <2 e 4,30 log ufc/g. A maioria das amostras analisadas com resultados satisfatórios, não revelaram contagem, isto é o resultado final foi $<10^2$ ufc/g, o que corresponde ao limite de deteção do método utilizado na contagem e também ao limiar que separa a qualidade satisfatória da não satisfatória, nos valores guia utilizados para a qualificação das amostras (Santos *et al.*, 2005). Assim, a figura 19 representa o diagrama de extremos e quartis para o log das contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva, das amostras que revelaram contagem, o que corresponde a 46 amostras (22 amostras do grupo 1, 19 do grupo 2 e 5 do grupo 3).

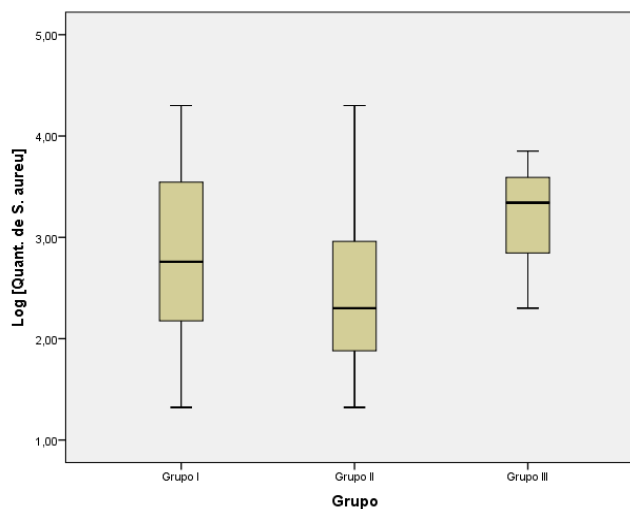


Figura 19: Diagrama de extremos e quartis de log para *Staphylococcus* coagulase positiva, por grupo de alimento

A mediana encontrada para o grupo 1 foi de 2,76 ($\pm 0,85$) log ufc/g, no grupo 2 foi de 2,30 ($\pm 0,82$) log ufc/g e no grupo 3 foi 3,34 (0,62) log ufc/g. A amplitude no grupo 1 e no grupo 2 revelou-se idêntica, sendo que o valor máximo foi de 4,30 log ufc/g e o valor mínimo de 1,32 log ufc/g. Já no grupo 3 o valor máximo foi de 3,85 log ufc/g e o valor mínimo de 2,30 log ufc/g. Como seria de esperar, o grupo 3 revelou uma mediana mais elevada, no entanto, os valores máximos dos grupos 1 e 2 são superiores resultado das

amostras qualificadas como inaceitáveis/potencialmente perigosas, encontradas nestes grupos.

Se compararmos os resultados com outros publicados, verifica-se que alguns apresentam dados muito semelhantes aos nossos. Fernandes (2014) encontrou 1,1% das suas amostras não satisfatórias e Framegas (2012) encontrou 1,24%. Outros autores indicam valores mais elevados, Alves & Ueno encontraram 3,31% das amostras potencialmente perigosas, enquanto Legnani et al., tiveram 3,13 % das suas amostras inaceitáveis com um valor máximo de 6,65 ufc/g, enquanto no nosso trabalho o valor máximo foi de 4,30 ufc/g. Tal como referido para *Salmonella* spp. Isara et al. (2010), encontraram valores bastante mais elevados, com 33,3% das amostras a revelarem-se positivas.

1.2. Microrganismos Indicadores de Qualidade e Higiene Alimentar

1.2.1. *Escherichia coli*

E. coli é uma das bactérias indicadoras de contaminação fecal e a sua presença em alimentos prontos a consumir, indica falta de higiene e risco da presença de patogénicos de origem fecal, nomeadamente *Salmonella* spp., e como tal, forte indício de ocorrerem danos sobre a saúde dos consumidores.

Em termos da quantificação de *E. coli*, em produtos prontos a consumir, entre 2006 e 2012, verificou-se que foram efetuadas no total 1492 análises, dentro das quais se obtiveram 1422 (74,7%) amostras cujos resultados se manifestaram satisfatórios, 21 (1,1%) amostras em que os valores são aceitáveis e 49 (2,6%) amostras que se encontravam não satisfatórias, tal como se apresenta na figura 20.

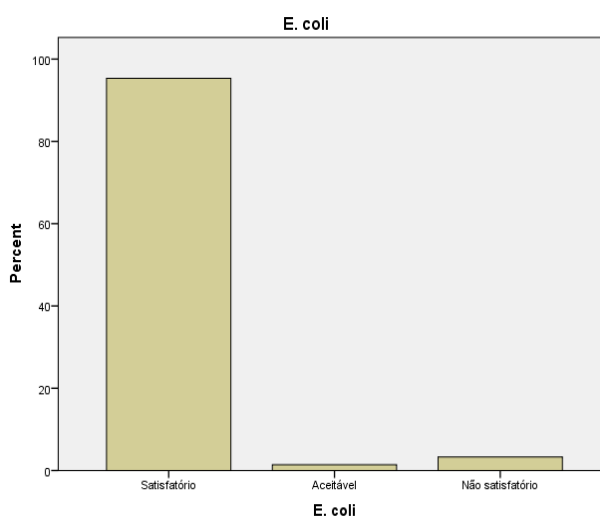


Figura 20: Frequência dos resultados da quantificação de *Escherichia coli*

Complementarmente a figura 21, demonstra que das 1492 análises efetuadas, verificou-se que 1033 (69,20%) foram executadas a produtos prontos a consumir do grupo 1, 236 amostras (15,80%) pertenciam a produtos prontos a consumir do grupo 2 e 223 (14,90%) a produtos do grupo 3.

São ainda evidenciados os resultados obtidos em termos de cada grupo. Nas análises realizadas a produtos do grupo 1, verifica-se que 1000 (67,00%) amostras revelaram-se satisfatórias, 0 análises (0,00%) mostraram-se aceitáveis e 33 (2,20%) de amostras apresentavam-se não satisfatórias. Nas análises realizadas a produtos do grupo 2, obtiveram-se 227 (15,20%) amostras satisfatórias, 0 (0,00%) amostras com valores considerados aceitáveis e 9 análises (0,60%) encontravam-se não satisfatórias. Relativamente aos produtos analisados pertencentes ao grupo 3, verificou-se que obtiveram-se 195 amostras (13,10%) com valores satisfatórios, 21 (1,40%) amostras com valores aceitáveis e 7 (0,50%) amostras que indicaram estarem não satisfatórias.

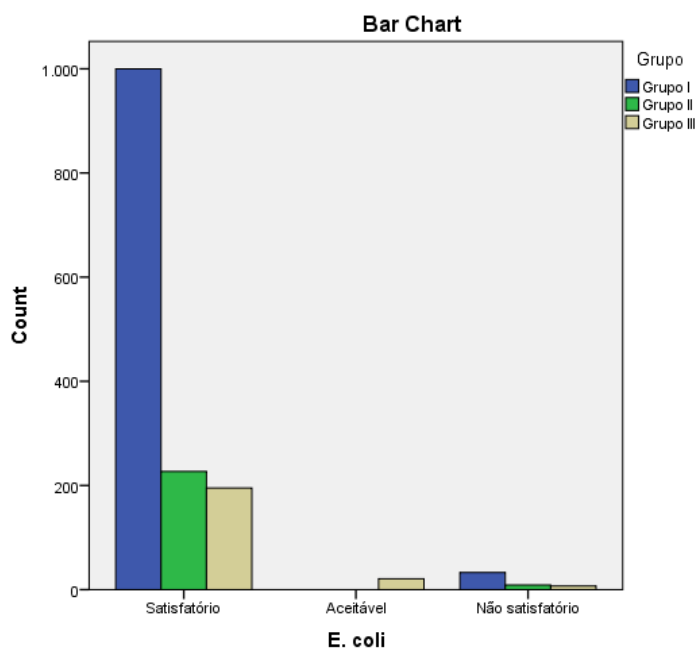


Figura 21: Frequência dos resultados da quantificação de *Escherichia coli*, por grupo de alimento

A figura 22, representa a qualificação das amostras ao longo dos anos para os resultados da quantificação de *E. coli*, nos grupos 1, 2 e 3. Tal como para o parâmetro *Staphylococcus* coagulase positiva, em 2006 todos os resultados foram satisfatórios nos 3 grupos considerados.

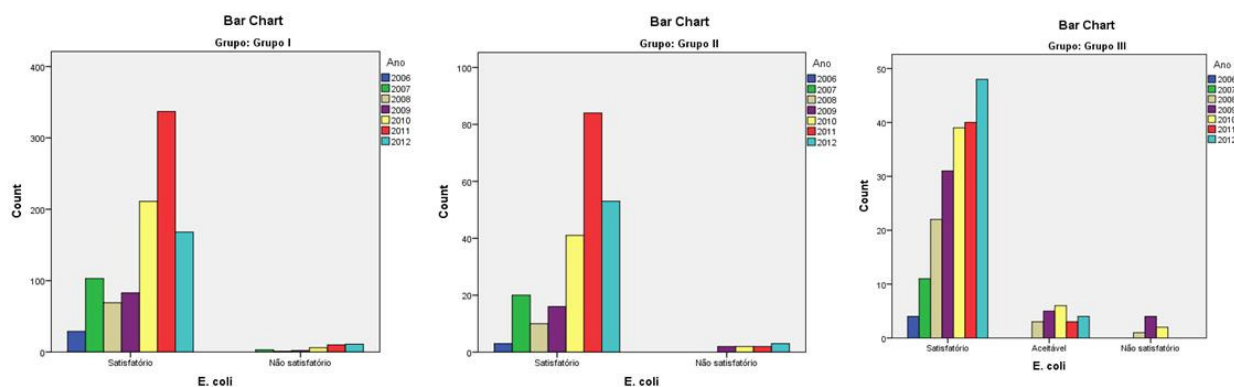


Figura 22: Incidência temporal da qualificação das amostras para a quantificação de *E. coli*, em cada grupo de alimento

As amostras que apresentaram níveis de *E. coli* superiores ao aceitável, tornam-se exemplo do incumprimento de requisitos de HSA, fulcrais para garantir a plena salubridade das refeições a servir aos consumidores, por parte dos estabelecimentos de restauração pública da região em estudo. No caso das amostras do grupo 1, revelam deficiente higiene na manipulação, armazenamento e preparação dos produtos utilizados para o cozinhado realizado e/ou falhas no processo de confeção dos pratos (sobretudo deficiência do binómio tempo/temperatura) e/ou contaminação pós-confeção. Outra das causas poderá ser a ocorrência de contaminações cruzadas, extensível aos casos ocorridos nos produtos do grupo 2, ocorridas principalmente entre cozinhados e crus, face a falhas sobre os produtos crus, reconhecendo que as falhas sobre a lavagem e desinfecção deste tipo de alimentos, é a causa mais frequente para este tipo de ocorrências e a que mais prevalece nos casos de contaminações em produtos do grupo 3. Contudo, os valores não são assim tão alarmantes, podendo considerar-se que de um modo geral, a prevalência da *E. coli* é diminuta, traduzindo portanto que grande parte dos estabelecimentos de restauração pública, encontra-se a implementar adequadamente o sistema HACCP e como tal, demonstram que adotam e aplicam no seu dia-a-dia, as normas de HSA necessárias para assegurar e garantir a salubridade dos alimentos.

As contagens de *E. coli* variaram entre $<1,0$ e $4,15 \log \text{ ufc/g}$. Tal como referido para *Staphylococcus* coagulase positiva, a maioria das amostras apresentou resultados $<10^1 \text{ ufc/g}$, limite de deteção do método. A figura 23 representa o diagrama de extremos e quartis, para o log das contagens de *E. coli* das amostra que revelaram contagem, o que corresponde a 48 amostras (24 do grupo 1, 6 do grupo 2 e 18 do grupo 3).

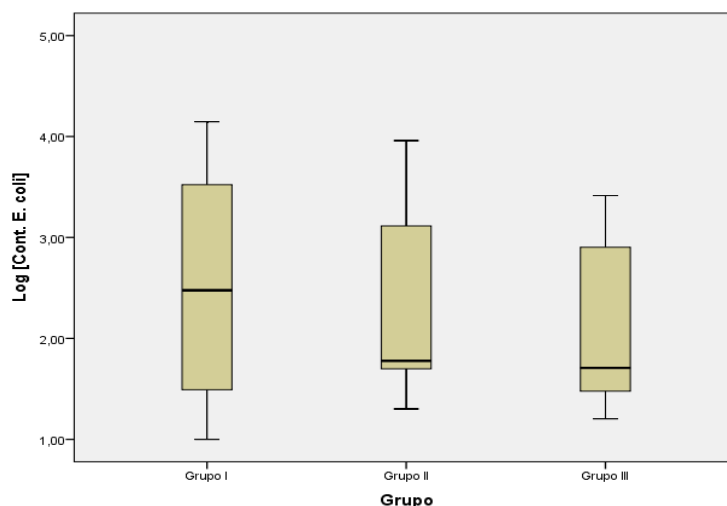


Figura 23: Diagrama de extremos e quartis de log para *E. coli*, por grupo de alimento

A mediana encontrada para o grupo 1 foi de 2,48 ($\pm 1,07$) log ufc/g, no grupo 2 foi de 1,78 ($\pm 1,03$) log ufc/g e no grupo 3 foi 1,37 (0,76) log ufc/g.

A amplitude no grupo 1 situou-se entre 4,15 log ufc/g e 1,00 log ufc/g, no grupo 2 entre 3,96 log ufc/g e 1,30 log ufc/g. Por fim, o valor máximo no grupo 3 foi de 3,41 log ufc/g e o valor mínimo de 1,20 log ufc/g. Contrariamente ao esperado, foi no grupo 1 que se situou a mediana de maior valor. Dado que este grupo é constituído por alimentos totalmente cozinhados e este microrganismo é facilmente destruído pelo calor, verifica-se portanto o desrespeito pelas BPH.

Comparando os resultados com outros publicados, verifica-se que corroboram os nossos valores. Neste trabalho 3,3% das amostras revelaram-se não satisfatórias e Fernandes (2014) encontrou 2,2% das suas amostras não satisfatórias, enquanto Framegas (2012) encontrou um valor mais elevado de 6,19%. De igual modo, Legnani et al. (2004) obtiveram valores mais elevados, 5,4% de amostras insatisfatórias, com um valor máximo de 6,20 log de ufc/g, enquanto no nosso trabalho esse valor foi de 4,15 ufc/g. Sospedra et al. (2013) refere 6,65% de amostras de salada contaminadas com *E. coli*.

1.2.2. Quantificação de Microrganismos a 30 °C

Segundo Franco & Landgraf (2006) a quantificação de microrganismos aeróbios mesófilos visa verificar a contaminação geral de um alimento e tem sido usada como

indicador da qualidade higiênica dos alimentos, fornecendo também uma ideia sobre o seu tempo de conservação.

No que respeita à quantificação de Microrganismos a 30 °C em produtos prontos a consumir, verificou-se que foram desenvolvidas 1724 análises, nas quais se obtiveram 555 (29,2%) amostras satisfatórias, 747 (39,3%) amostras em que os valores se apresentaram aceitáveis e 422 (22,2%) amostras que se mostraram não satisfatórias, tal como se apresenta na figura 24.

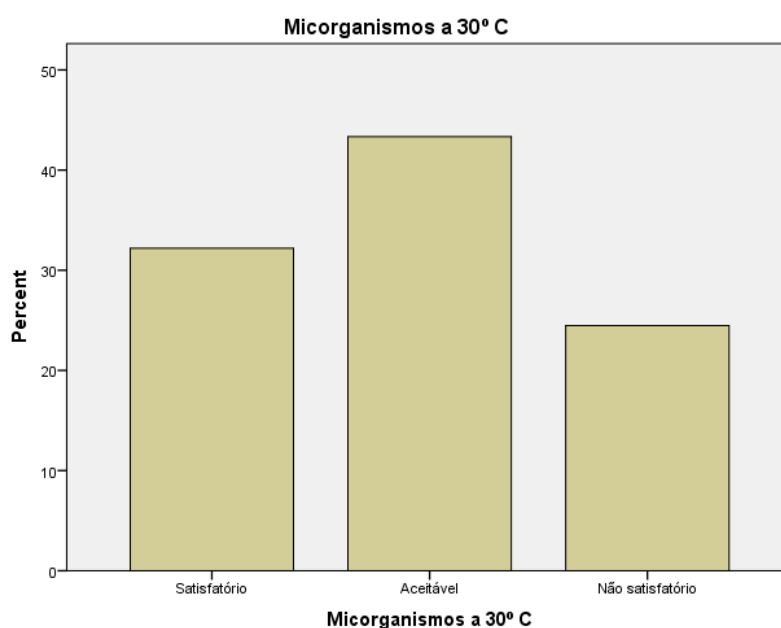


Figura 24: Frequência dos resultados da Quantificação de Microrganismos a 30 °C

Nas 1724 análises efetuadas para quantificação de Microrganismos a 30 °C, verificou-se que 1309 (75,90%) das análises foram realizadas a produtos prontos a consumir do grupo 1 e 199 análises (11,50%) a produtos do grupo 2 e 216 (12,52%) do grupo 3.

Na figura 25 pode observar-se que nas amostras do grupo 1, 471 (27,30%) revelaram-se satisfatórias, 589 (34,20%) mostraram-se aceitáveis e 249 (14,40%) apresentavam-se não satisfatórias. Nas análises realizadas a produtos do grupo 2, obtiveram-se 59 (3,40%) amostras satisfatórias, 54 (3,10%) amostras com valores considerados aceitáveis e 86 amostras (5,00%) encontravam-se não satisfatórias. Quanto aos produtos analisados pertencentes ao grupo 3, verificou-se que se obtiveram 25 amostras (1,50%) com valores satisfatórios, 104 (6,00%) com valores aceitáveis e 87 (5,00%) que indicaram estarem não satisfatórias.

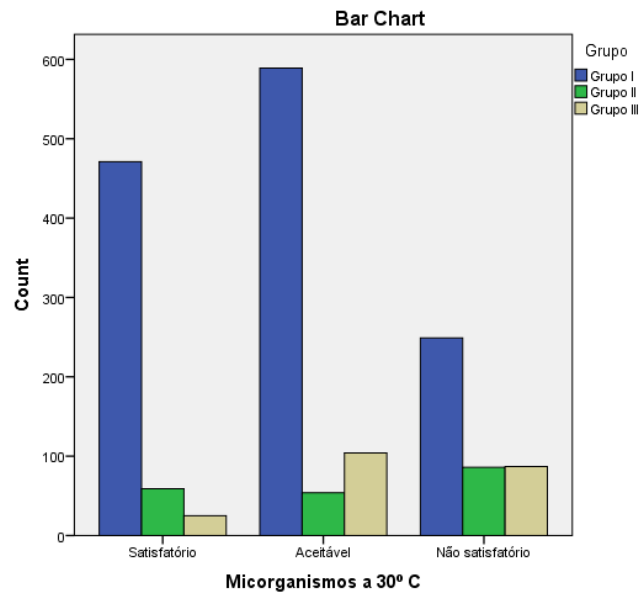


Figura 25: Frequência dos resultados da quantificação de Microrganismos a 30 °C, por grupo de alimento

A figura 26, tem como objetivo representar a qualificação das amostras ao longo dos anos, para os resultados da quantificação de Microrganismos a 30 °C, nos grupos 1, 2 e 3. Os valores obtidos e as respetivas percentagens estão expressas na tabela 12.

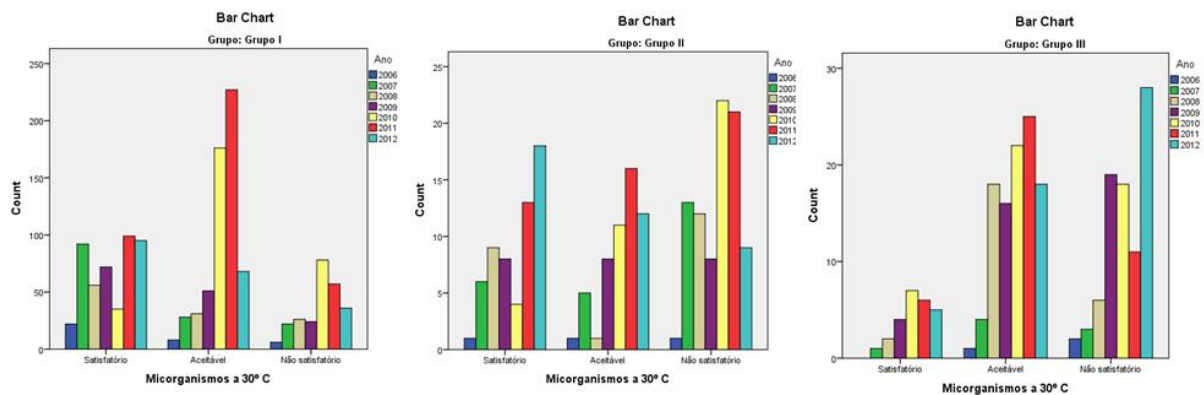


Figura 26: Incidência temporal da qualificação das amostras para a quantificação de Microrganismos a 30°C, em cada grupo de alimento

Tabela 12: Incidência da quantificação de Microrganismos a 30 °C, em cada grupo de alimento, por ano (Nº/%)

	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	Total
Grupo 1 S*	22/1,7	92/7,0	56/4,3	72/5,5	35/2,7	99/7,6	95/7,3	471/36,0
Grupo 1 A*	8/0,6	28/2,1	31/2,4	51/3,9	176/13,14	227/17,3	68/5,2	589/45,0
Grupo 1 NS*	6/0,5	22/1,7	26/2,0	24/1,8	78/6,0	57/4,4	36/2,8	249/19,0
Total	36/2,8	142/10,8	113/8,6	147/11,2	289/22,1	383/29,3	199/15,2	1309/100
Grupo 2 S*	1/0,5	6/3,0	9/4,5	8/4,0	4/2,0	13/6,5	18/9,0	59/29,6
Grupo 2 A*	1/0,5	5/3,0	1/0,5	8/4,0	11/5,5	16/8,0	12/6,0	54/27,1
Grupo 2 NS*	1/0,5	13/6,5	12/6,0	8/4,0	22/11,1	21/10,6	9/4,5	86/43,2
Total	3/1,5	24/12,1	22/11,1	24/12,1	37/18,6	50/25,1	39/19,6	199/100
Grupo 3 S*	0/0,0	1/0,5	2/0,9	4/1,9	7/3,2	6/2,8	5/2,3	25/11,6
Grupo 3 A*	1/0,5	4/1,9	18/8,3	16/7,4	22/10,2	25/11,6	18/8,3	104/48,1
Grupo 3 NS*	2/0,9	3/1,4	6/2,8	19/8,8	18/8,3	11/5,1	28/13,0	87/40,3
Total	3/1,4	8/3,7	26/12,0	39/18,1	47/21,8	42/19,4	51/23,6	216/100

S – satisfatório; A – aceitável; NS – não satisfatório

Pela observação da tabela, verificamos que a proporção de amostras satisfatórias e aceitáveis é semelhante no grupo 2 e no grupo 1. Já no que respeita ao grupo 3, verifica-se que a maior percentagem é de amostras não satisfatórias. O ano que apresenta maior percentagem de amostras não satisfatórias dos grupos 1 e 2 foi 2010, enquanto no grupo 3 foi 2012.

As amostras cujos resultados se manifestaram não satisfatórias, foram alvo essencialmente de exposição a temperaturas incorretas por um elevado período de tempo após a sua confeção, sobretudo no caso dos produtos do grupo 1, e/ou sujeitos a condições de refrigeração inadequada e/ou permaneceram expostos a condições inadequadas de HSA, nomeadamente ao nível das instalações, equipamentos e utensílios de trabalho (principalmente os que entram em contacto direto com os GA), e/ou falhas nas BPH pessoal e/ou e/ou falhas nas BPH dos alimentos. No grupo 3 prende-se principalmente com a pouca eficácia dos processos de desinfeção, neste grupo de microrganismos.

As contagens de microrganismos aeróbios mesófilos situaram-se entre 1,00 e 8,53 log ufc/g. A figura 27 apresenta o diagrama de extremos e quartis para o log das contagens de Microrganismos a 30 °C. Verifica-se que a mediana encontrada para o grupo 1 é de 2,75 ($\pm 1,44$) log ufc/g, no grupo 2 é de 4,13 ($\pm 1,70$) log ufc/g e no grupo 3 é 5,42 ($\pm 1,26$) log ufc/g. A amplitude no grupo 1 situa-se entre 1,00 log ufc/g e 8,53 log ufc/g,

no grupo 2 entre 1,00 log ufc/g e 7,69 log ufc/g e no grupo 3 entre 1,95 log ufc/g e 8,30 log ufc/g. No grupo 1 verificaram-se alguns valores *outliers*.

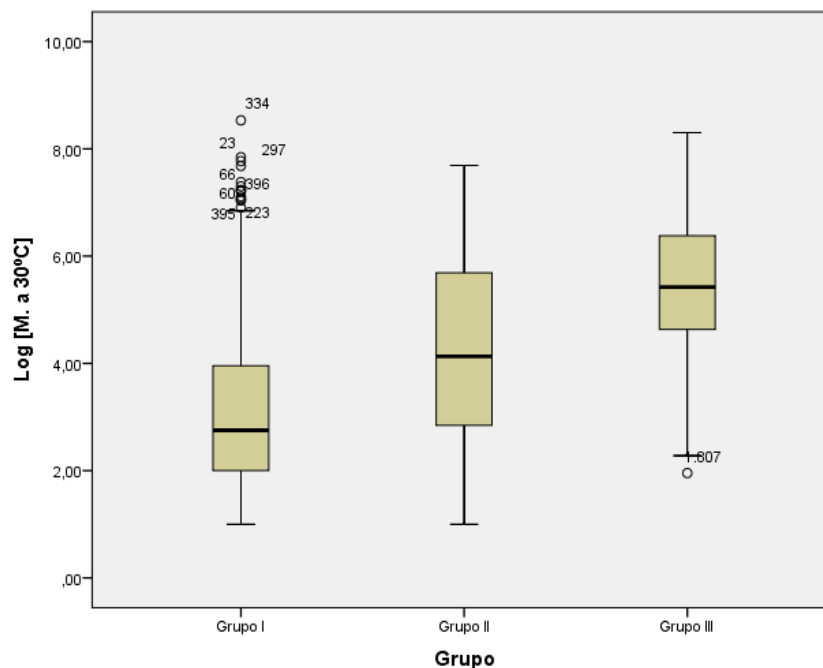


Figura 27: Diagrama de extremos e quartis de log para Microrganismos a 30 °C, por grupo de alimento

Noutras publicações científicas, observou-se que Legnani et al., (2004), no grupo de alimentos comparáveis com os nossos grupos 1 e 2, para a contagem de Microrganismos a 30 °C, foram analisadas 220 amostras e somente 6,6% das amostras obtiveram resultado inaceitável. No entanto, estes valores não podem ser comparados com os obtidos neste trabalho, já que o valor acima do qual estes autores definiram o inaceitável foi 10^6 ufc/g sendo aceitável entre 10^5 e 10^6 ufc/g e neste caso temos que 16,1% das amostras encontram-se acima de 10^5 ufc/g. Dado que o valor acima do qual as nossa amostras são não satisfatórias é 10^4 ufc/g, podemos inferir que o resultado de 24,4% encontrado neste trabalho, não se afasta muito do valor destes autores. Fernandes (2014), encontrou um valor de 14,4% de amostras não satisfatórias, sendo que as amostras analisadas foram apenas dos grupos 1 e 2, enquanto Framegas (2012) apresentou um valor de 14,4%.

1.2.3. Classificação das amostras perante os Valores Guia

Como já referido, em cada parâmetro as amostras foram classificadas de acordo com os valores guia do INSA, que se encontram na tabela 8. Como se pode ver na figura 28, o número de amostras classificadas como satisfatórias e aceitáveis, foi muito semelhante e corresponde à grande maioria das amostras. Apenas 0,63% foram classificadas como inaceitáveis/potencialmente perigosas e 22,5% não satisfatórias.

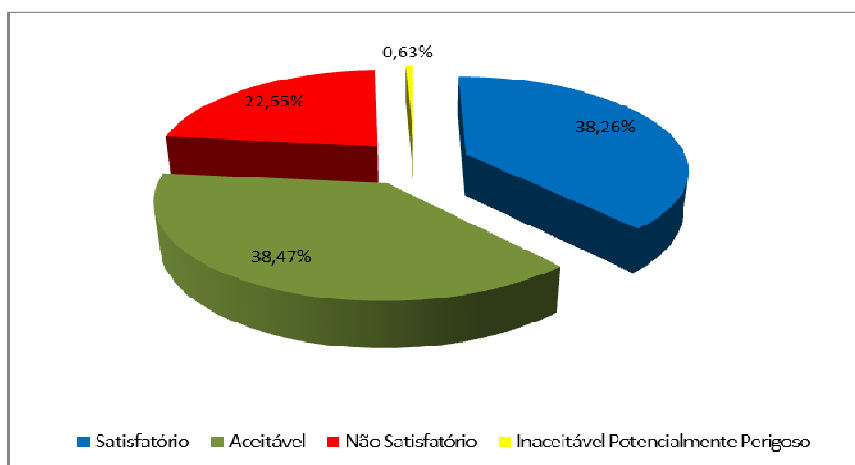


Figura 28: Classificação global das amostras

Fernandes (2014) obteve uma percentagem de amostras não satisfatórias de 28,9%, ligeiramente superior à referida neste trabalho, mas não obteve qualquer amostra inaceitável/potencialmente perigosa. Já Framegas (2012) obteve apenas 5,79% de amostras não satisfatórias e também não encontrou nenhuma amostra inaceitável/potencialmente perigosa. Um trabalho publicado em 2006 pelo INSA (Amorim, 2006b), refere 20% de amostras não satisfatórias e 1% foram classificadas como inaceitáveis/potencialmente perigosas, valores que se podem considerar próximos dos encontrados neste trabalho.

IV – CONCLUSÕES

Embora a implementação do sistema HACCP seja uma medida obrigatória consagrada na legislação para todos os operadores do sector alimentar, o qual inclui obviamente a restauração pública e, como consequência, existir vigilância laboratorial sobre os alimentos preparados nestes estabelecimentos, a verdade é que não existem dados publicados que nos permitam ter algum conhecimento sobre a segurança e higiene destes produtos. Daqui ressalta a importância deste trabalho.

Deste modo, a vigilância laboratorial faz parte do procedimento de verificação do sistema HACCP (princípio 6) e inclui as análises microbiológicas aos alimentos prontos a comer, as quais irão permitir concluir se as medidas preventivas implementadas, estão na prática, a ser eficazes. Neste contexto, o desenvolvimento deste trabalho permitiu-nos clarificar as condições de qualidade e de HSA, com que os produtos alimentares prontos a consumir chegaram à mesa dos consumidores, em unidades de restauração pública, na região centro, durante o período de 2006 a 2012.

Da sua conclusão, salienta-se o facto de a incidência de microrganismos patogénicos ser bastante baixa. No caso de *Salmonella* spp. obteve-se apenas 0,1% de casos positivos, para *L. monocytogenes* obteve-se 1,4% de casos positivos e no que respeita *Staphylococcus* coagulase positiva obteve-se 0,1% de amostras com elevada contagem, que foram classificadas como potencialmente perigosas, o que permite concluir que estão a ser assegurados alguns parâmetros de HSA. Já no que respeita aos indicadores de contaminação, verificamos que para *E. coli* a maioria das amostras revelou-se com valores inferiores ao aceitável e apenas 2,65% apresentaram resultados não satisfatórios. Os valores relativos a Microrganismos a 30 °C revelaram uma frequência de 22,2% de amostras classificadas como não satisfatórias. Estes resultados podem ser considerados normais já que estão de acordo com outros trabalhos publicados. No entanto, estes valores podem eventualmente comprometer a qualidade nutricional, visto que os microrganismos degradam os alimentos utilizando os nutrientes existentes e, como consequência, fica comprometido o benefício nutricional que o Homem pode tirar dos mesmos (Santos, 2009).

Acresce ainda que relativamente à qualificação global das amostras, apenas 0,63% se revelaram inaceitáveis/potencialmente perigosas, e 22,65% não satisfatórias.

Por outro lado, relativamente ao cumprimento da legislação aplicável, refere-se que as 9 amostras que revelaram presença de *L. monocytogenes*, não cumprem o Regulamento

1441 (2007), relativo a critérios microbiológicos aplicáveis a GA. De igual modo, o produto onde se encontrou *Salmonella* spp., em feijoada, não cumpre a legislação referida, dado tratar-se de um preparado de carne destinado a ser consumido cozinhado. Uma vez que as análises microbiológicas permitem avaliar a qualidade higiénica e de SA dos GA, permite-nos verificar se o sistema HACCP está a ser eficaz, devendo a avaliação não satisfatória conduzir à investigação das causas que estiveram na origem desses resultados. Qualquer avaliação não satisfatória indica ineficiência do sistema HACCP, devendo ser implementadas as ações necessárias que conduzam ao controlo da situação. Só o cumprimento escrupuloso da metodologia preventiva subjacente ao HACCP, permite garantir a qualidade do produto final e salvaguardar os próprios operadores (Amorim, 2006b). Ao nível da restauração pública nem sempre é fácil colocar em prática estes métodos, devido à grande variabilidade de pratos preparados e à pouca preparação que muitos operadores apresentam. Ressalta-se a importância da formação destes operadores, já que a maioria das DOA resulta de práticas incorretas por parte dos manipuladores.

No entanto, é ainda de salientar, que os resultados encontrados revelam que no seu dia-a-dia, os operadores envolvidos na preparação dos produtos em análise, demonstraram preocupação em cumprir os requisitos legalmente aplicáveis e que são fundamentais para assegurar e promover a qualidade e segurança dos alimentos, que colocam à disposição dos consumidores, sem que estes representem qualquer risco para a saúde.

Como conclusão final deste trabalho, podemos dizer que de um modo geral, as amostras analisadas não apresentaram um risco sério para a saúde e a qualidade higiénica foi relativamente aceitável, apesar da percentagem de alimentos que ultrapassaram os limites estipulados revelarem falta do cumprimento das BPH. No entanto, os resultados inaceitáveis/potencialmente perigosos, apesar de reduzidos, não devem ser negligenciados sendo importante uma vigilância permanente neste tipo de produtos.

BIBLIOGRAFIA

- Adams, M. R. e Moss, M. O. (2008). *Food microbiology*. (3th ed.). Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry
- Afonso, A. (2006). Metodologia HACCP. *Segurança e Qualidade Alimentar*, 1 (novembro), 12-15.
- Alves, M. e Ueno, M. (2010). Restaurantes self service: segurança e qualidade sanitária dos alimentos servidos. *Revista de Nutrição*, 23(4), 573-580.
- Amorim, J. (2006a). Amostra Testemunha. [Consultado em 24 de novembro de 2013]. Disponível em:
<http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/Publicacoes/Outros/Paginas/AmostraTestemunha.aspx>
- Amorim, J. (2006b). Resultados de análises microbiológicas em refeições colhidas na restauração coletiva. [Consultado em 26 de outubro de 2014]. Disponível em:
<http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/Publicacoes/Outros/Documents/AlimentacaoNutricao/AnalisesMicrobiologicas2005.pdf>
- Araújo, M. (2007). Safety e Security. Conceitos diferentes. *Segurança e Qualidade Alimentar*, 2 (3), 6-8.
- ARESP - Associação de Restaurantes e Similares de Portugal (2006). *Higiene e segurança alimentar: código de boas práticas para a Restauração pública*. Lisboa, Portugal: ARESP.
- ASAE – Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (2011). Riscos e alimentos. *Alimentos de Origem Animal*. Lisboa, Portugal: Ministério da Economia e Inovação. [Consultado em: 15 de junho de 2013]. Disponível em:
<http://www.asae.pt>
- Asao, T., Kumeda, Y., Kawai, T., Shibata, T., Oda, H., Haruki, K. (2003). An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. *Epidemiology and Infection*, 130, 33 - 40.
- Baptista, P. e Linhares, M. (2005). *Higiene e Segurança Alimentar na Restauração*. Vol.I. Guimarães, Portugal: Forvisão
- Baptista, P., Pinheiro, G. e Alves, P. (2003). *Sistemas de Gestão de Segurança Alimentar*. Manual 5, Ficha Técnica, Guimarães, Portugal: Forvisão.

- Baptista, P. e Antunes, C. (2005). *Higiene e Segurança Alimentar na Restauração* Vol.II. Guimarães, Portugal: Forvisão.
- Baptista, P. (s.d.). *Sistemas de Segurança Alimentar na Cadeia de Transporte e Distribuição de Produtos Alimentares*, Guimarães, Portugal: Forvisão.
- Barbeira, L. (2007). Guião Metodológico de implementação do HSA - *Kit Pedagógico*. 2007. 4-26. [Consultado em 21 de setembro de 2013]. Disponível em: http://www.epralima.com/iga/index2.php?option=com=docman&task=doc_view&gid=2&Itemid=99
- Bryan, F.L. (2002). Where We Are in Retail Food Safety. How We Got to Where We Are, and How Do We Get There?. *Journal of Environmental Health*. 65(2), 29-35.
- Breda, J. (1998). *Fundamentos de Higiene Alimentar e Nutrição*. Instituto Nacional de Formação Turística.
- Bernardo, F. (2006). Perigos Sanitários nos Alimentos. *Revista Segurança e Qualidade Alimentar*, 1(1), 6-8.
- Bolton, D. J. e Maunsell, B. (2004). *Guidelines for Food Safety Control in European Restaurants*. The Food Safety Department, Teagasc, Dublin, Irlanda.
- CAC - Codex Alimentarius Commission (2003). *Recommended International Code of Practice – General Principles of Food Hygiene*. CAC/RCP 1-1969, Rev. 4 2003.
- CCE – Comissão das Comunidades Europeias (2000). Livro Branco sobre a segurança dos alimentos. Comissão das Comunidades Europeias, Bruxelas: COM (1999) 719 final. [Consultado em 14 de julho de 2013]. Disponível em: <http://eurlex.europa.eu/legalcontent/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:51999DC0719&from=PT>
- CDC (2005). *Foodborne illness: frequently asked questions*. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention.
- Chambel, A., Afonso, A., Tomé, A., Gonçalves, C., Anjos, F., Pereira, L., Marramaque, M.C., Queiroz, P., Távora, T., & Sousa, J.V. (2002). Guia Geral de Aplicação do Sistema HACCP: Análise dos Perigos e Pontos Críticos de Controlo. Lisboa, Portugal, Federação das Indústrias Portuguesas Agro-Alimentares.
- Correia, C., Campos, I.C., Coelho, A.S., Maia, C., Pena, C., Bonito, C.C., Sousa, I., Toscano, M.M., Furtado, R., Santos, S.D., Viegas, S., M Lopes, T.T., Saraiva, M. e Calau, M.A. (2013). Investigação laboratorial de toxinfecções alimentares (2008-2011). *Boletim Epidemiológico Observações*, 2(6), 3-5.

- Decreto-Lei n.º 67/98, de 18 de março de 1998. Diário da República n.º 65/1998– I Série-A, Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Lisboa.
- Decreto-Lei n.º 113/2006, de 12 de junho de 2006. Diário da República n.º 113/2006 – I Série-A, Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Lisboa.
- Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de agosto de 2007. Diário da República n.º 164/2007 – I Série, Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional, Lisboa.
- Decreto Regulamentar n.º 20/2008, de 27 de novembro de 2008. Diário da República n.º 231/2008 – I Série, Ministério da Economia e Inovação, Lisboa.
- Diretiva 93/43/CEE, de 14 de junho de 1993, Jornal Oficial das Comunidades Europeias L 175/2, Comissão Europeia, Bruxelas.
- Diretiva 2002/99/CE, de 16 de dezembro de 2002, Jornal Oficial das Comunidades Europeias L 18/11, Comissão Europeia, Bruxelas.
- Downes, F. P. e Ito, K. (Eds.) (2001). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. (4th ed.). Washington, EUA: American Public Health Association.
- DRAPC (2003). Direção Regional de Agricultura e Pesca do Centro. *Segurança Alimentar – síntese da legislação*.
- Durán, F. et al. (2003). *Guia de Implantación de Sistemas de Autocontrol en la Restauración Hospitalaria*. Madrid: Agencia Española de Seguridad Alimentaria.
- EFSA (2007a) – European Food Safety Authority (2007a). *Trends and Sources of Zoonotic Agents and Antimicrobial Resistance in the European Union 2005*. EFSA Journal 206-94, 6-352. doi:10.2903/j.efsa.2006.94r
- EFSA (2007b). *The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2006*. EFSA Journal 2007–130, 2-352. doi:10.2903/j.efsa.2007.130r.
- EFSA (2009). *The Community Summary Report Food-borne outbreaks in the European Union in 2007*. EFSA Journal 2009 – 271. doi:10.2903/j.efsa.2009.271r.

- EFSA (2010). *The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in the European Union in 2008*. EFSA Journal; 2010 8(1):1496. doi:10.2903/j.efsa.2010.1496.
- EFSA (2011). *The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009*. EFSA Journal 2011; 9(3):2090. 10.2903/j.efsa.2011.2090.
- EFSA (2012). *The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010*. EFSA Journal 2012;10(3):2597. doi:10.2903/j.efsa.2012.259.
- EFSA (2013). *The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011*. EFSA Journal 2013, 11(4):3129. doi:10.2903/j.efsa.2013.3129.
- EFSA (2014). *The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2012*. EFSA Journal 2014;12(2):3547. doi:10.2903/j.efsa.2014.3547.
- Escola Superior de Biotecnologia – Universidade Católica Portuguesa. (2010). Segurança alimentar – abordagem global e integrada. [Consultado em 02 de abril de 2013]. Disponível em: <http://www.esb.ucp.pt/twt/segalimentar>
- Europa (2011). Segurança dos géneros alimentícios e dos alimentos para animais. [Consultado em 15 de maio de 2013]. Disponível em: http://europa.eu/legislation_summaries/food_safety/general_provisions/f80501.ppt.htm
- EU-RAIN - European Union Risk Analysis Information Network (2003). *Catering food safety – a responsibility ignored?* Conference Report. Budapest: EU-RAIN. [Consultado em 07 de agosto de 2011]. Disponível em: http://smas.chemeng.ntua.gr/miram/files/publ_272_11_2_2005.pdf
- FDA (2009). “Food Code”, Recommendations of the United States Public Health Service Food and Drug Administration, Anex 4, “Management of Food Safety Practices – Achieving Active Managerial Control of Foodborne Illness Risk Factors”, 500-521.
- FDA (2011). *Hazard Analysis and Critical Control Point Principles and Application Guidelines*. . [Consultado em 19 De outubro de 2013]. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/HazardAnalysisCriticalControlPointsHACCP/HACCPPrinciplesApplicationGuidelines/default.htm#app-a>

- FDA (2012). *Bad Bug Book: Handbook of Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins*, Second Edition. [Consultado 30 de novembro de 2012]. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/default.htm>
- FDA (2013). *Food Code*. [Consultado em 28 de junho de 2013]. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceRegulation/RetailFoodProtection/FoodCode/UCM374510.pdf>
- Framegas, D. (2012). *Impacto da contaminação de alimentos prontos a comer na Saúde Pública* (Dissertação de Mestrado). Universidade de Aveiro, Portugal.
- Federal Institute for Risk Assessment - BfR, (2014). Food safety, Microbial risk, Bacteria, *Escherichia coli*. [Consultado 30 de setembro de 2014]. Disponível em: http://www.bfr.bund.de/en/escherichia_coli-54353.html
- Fernandes, D. (2014). *Qualidade microbiológica de refeições servidas e das condições de higiene numa IPSS* (Dissertação de Mestrado). Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Portugal.
- FIPA – Federação das Indústrias Portuguesas Alimentares (2001). Boletim informativo n.º5 *FIPA Flash*. 8 de Outubro. [Consultado em 02 De fevereiro de 2013]. Disponível em: <http://www.fipa.pt/fipaflash5.pdf>
- Forsythe, S.J. (2010). *The Microbiology of Safe Food*. Nova Iorque, EUA: Wiley-Blackwell.
- FoodSafety.gov (2010). *Food poisoning*. [Consultado em 13 de outubro de 2013] Disponível em: <http://www.foodsafety.gov/poisoning/index.html>
- Franco, B.D.G. de M. e Langraf, M. (2006). *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo, Brasil: Atheneu.
- FSAI – Food Safety Authority of Ireland (2010). Hygiene Package. [Consultado em 09 de junho de 2013]. Disponível em: http://www.fsai.ie/legislation/food_legislation/food_hygiene/introduction.html
- Gaze, R., Betts, R., Stringer, M. (2002). HACCP systems and microbiological risk assessment. In Brown, M. e Stringer, M. (Eds.), *Microbiological Risk Assessment in Food Processing*. Cambridge, UK: Woodhead Publishing.
- Germano, P. e Germano, M. (2008). *Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos*. (3ª Edição). São Paulo, Brasil: Editora Manole Ltda.

- Halkier, B. e Holm, L. (2006). Shifting responsibilities for food safety in Europe: An introduction. *Appetite*. 47(2), 127-133.
- Henriques, A.R. (2008). *Sistemas pró-ativos em Restauração*. Resumo de comunicação oral. Curso de pós-graduação em Segurança da Qualidade dos Alimentos – Aplicação de metodologias proactivas à garantia da qualidade alimentar. Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.
- Isara, A.R., Isah, E.C., Lofor, P.V.O. e Ojide, C.K. (2010). Food contamination in fast food restaurants in Benin City, Edo State, Nigeria: Implications for food hygiene and safety. *Public Health*, 124(8), 467-71. doi: 10.1016/j.puhe.2010.03.028.
- ISO 4833:2003. *Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Colony count technique at 30 degrees C*. (2003). Genève, Suíça: International Organization for Standardization.
- ISO 6579:2002. *Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection of Salmonella spp.* (2002). Genève, Suíça: International Organization for Standardization.
- ISO 7218:2007. *Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – General Requirements and Guidance for Microbiological Examinations*. (2007). Genève, Suíça: International Organization for Standardization.
- ISO 11290-2 (1998) “Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* – Part 1: Enumeration Method. AMENDMENT 1 (2004) Modification of the Isolation Media and the Haemolysis Test, and Inclusion of Precision Data”, *International Organization for Standardization*, Geneve, Suíça.
- ISO 6888-1:1999. *Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Enumeration of of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) – Part 1: Technique using Baird Parker agar*. (1999). Genève, Suíça: International Organization for Standardization.
- ISO 16649-2 (2001b). *Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Enumeration of β -glucuronidase-positive Escherichia coli – Part 2: Colony-count Technique at 44 °C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-glucuronide*. *International Organization for Standardization*, Geneve, Suíça.

- Jay, J.M., Loessner, M.J. e Golden, D.A. (2005). *Modern Food Micobiology*, (7th ed.). Nova Iorque, EUA: Springer.
- Jouve, J.L. (2002). Microbiological risk assessment (MRA): an introduction. In Brown, M. e Stringer, M. (Eds.). *Microbiological Risk Assessment in Food Processing*., Cambridge, UK: Woodhead Publishing.
- Jouve, J.L., Stringer, M.F., Baird-Parker, A.C. (1998). Food Safety Management Tools. *ILSI Europe Risk Analysis in Microbiology Task Force*, Brussels.
- Kuchenmuller T., Hird S., Stein C., Kramarz P., Nanda A., Havelaar A.H. (2009). *Estimating the global burden of foodborne diseases—a collaborative effort*. Euro Surveill. 14 (18).
- Legnani, P., Leoni, E., Berveglieri, M., Mirolo, G. e Alvaro, N. (2004). Hygienic controlo of mass catering establishments, microbiological monitoring of food and equipament. *Food Control*, 15, 205-211. doi:10.1016/S0956-7135(03)00.
- Lei 7/2009, de 12 de fevereiro de 2009, aprova a revisão do Código do Trabalho. Diário da República n.º 30, 1^a série. Assembleia da República
- Lobato, L., Santos M.. (2010). Grelhas de avaliação higio-sanitária de refeitórios escolares. *Revista da SPCNA. Alimentação Humana*, 16 (1).
- Lopes, P. (2005). Caracterização Higio-Sanitária dos Estabelecimentos de Restauração e Bebidas do Município de Ourém (Tese de Licenciatura). Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto.
- MA – Ministério da Agricultura (2011). Ministério da Agricultura (s.d.). Rastreabilidade. Instrumento de gestão do risco. [Consultado em 05 de maio de 2013]. Disponível em: <http://www.gpp.pt/RegAlimentar/Rastreabilidade.pdf>
- Meng, J., Doyle, M.P., Zhaot, T. e Zhaot, S. (2007). Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. In Doyle, M.P. e Beuchat, L.R. (Eds.), *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers* (pp. 249-269). Washington, EUA: ASM Press.
- Moreira, P.A. e Padrão, P.D. (2004). Educational and economic determinants of food intake in Portuguese adults: a cross-sectionnl survey. *BioMedCentral Public Health*, 4, 58-61.
- Notermans, S., Barendsz, A.W., Zeist, Rombouts, F. (2002). The evolution of microbiological risk assessment. In Brown, M. e Stringer, M. (Eds.), *Microbiological Risk Assessment in Food Processing*. Cambridge, UK: Woodhead Publishing.

- Novais, M. R., Santos, M. I., Correia, C. B. (2004). Alguns aspetos relacionados com a segurança alimentar no concelho de Lisboa. *Revista Portuguesa De Saúde Pública*, 22 (1), 37-41.
- Novais, M.R. (2006). Noções Gerais de Higiene e Segurança Alimentar: Boas Práticas e Pré-Requisitos HACCP, *Segurança e Qualidade Alimentar*, 1, 10-11.
- NP 4405 (2002). *Microbiologia alimentar: Regras gerais para a contagem de microrganismos. Contagem de colónias a 30°C*. Instituto Português da Qualidade, Ministério da Economia, da Inovação e do Desenvolvimento. Caparica.
- NP 1828 (1982). *Microbiologia Alimentar. Colheita de amostras para análise microbiológica*. Instituto Português da Qualidade, Ministério da Economia, da Inovação e do Desenvolvimento. Caparica.
- Oliveira, B. (2007). Qualidade e Segurança Alimentar na Restauração Coletiva. *Segurança e Qualidade Alimentar*, 2, 6-8.
- OMS (2006). Cinco Chaves para uma Alimentação Mais Segura. [Consultado em: 30 de abril de 2013]. Disponível em:
http://www.who.int/foodsafety/consumer/manual_keys_portuguese.pdf
- Pagotto, F. Corneau, N. e Farber, J.M. (2006). *Listeria monocytogenes* infections. In Riemann, H.P. and Cliver, D.O. (Eds), *Foodborne Infections and Intoxications* (pp. 313-340). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Inc.
- Pereira, M. L., do Carmo, L. S., dos Santos, E. J., Bergdoll, M. S. (1994). Staphylococcal food poisoning from cream-filled cake in a metropolitan area of South-Eastern Brazil, *Revista Saúde Pública*, 28, 406-409.
- Pezzini, J. (2006). *Spinach crisis 2006*. Comunicação apresentada no 14th manual Salinas valley ammonia safety day. Salinas. ” [Consultado em 20 de abril de 2013]. Disponível em:
<http://foofind.com/en/download/sO5oc8dUfhzs7Ft/Spinach%20Crisis%202006,%20Joe%20Pezzini.html>
- Portaria nº 1135/95, de 15 de setembro de 1995. Diário da República n.º 214/1995 – I Série-B, Ministério da Agricultura, da Saúde e do Ambiente e Recursos Naturais, Lisboa.
- Ray, B. (2004). *Fundamental food microbiology*. (3th ed.). Boca Raton, EUA: CRC Press.

- Raymundo, G.P. (2013). Hábitos Alimentares nos Tempos Modernos. *Aprende Brasil, Com a palavra a nutricionista*. [Consultado em 05 de julho de 2013]. Disponível em:
http://www.aprendebrasil.com.br/falecom/nutricionista_bd.asp?codtexto=388
- Regulamento (CE) n.º 178/2002, de 28 de Janeiro de 2002, que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, Jornal Oficial das Comunidades Europeias L 31/1, Comissão Europeia, Bruxelas.
- Regulamento (CE) n.º 852/2004, de 29 de abril de 2004, relativo à higiene dos géneros alimentícios, Jornal Oficial da União Europeia L 139/1, Comissão Europeia, Bruxelas.
- Regulamento (CE) n.º 853/2004, de 29 de abril de 2004, que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal, Jornal Oficial da União Europeia, L139/55, Comissão Europeia, Bruxelas.
- Regulamento (CE) n.º 854/2004, de 29 de abril de 2004, que estabelece regras específicas de organização dos controlos oficiais de produtos de origem animal destinados ao consumo humano, Jornal Oficial da União Europeia, L226/83, Comissão Europeia, Bruxelas.
- Regulamento (CE) n.º 882/2004, de 29 de abril de 2004, relativo aos controlos oficiais realizados para assegurar a verificação do cumprimento da legislação relativa aos alimentos para animais e aos géneros alimentícios e das normas relativas à saúde e ao bem-estar dos animais, Jornal Oficial da União Europeia, L191/1, Comissão Europeia, Bruxelas.
- Regulamento (CE) n.º 1441/2007, de 5 de dezembro de 2007, que altera o Regulamento (CE) n.º 2073/2005, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios, Jornal Oficial da União Europeia, L322/12, Comissão Europeia, Bruxelas.
- Regulamento (CE) n.º 2073/2005, de 15 de novembro, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios, Jornal Oficial da União Europeia, L338/1, Comissão Europeia, Bruxelas.
- Sá, M. I. e Ferreira, C. (2007). Importância das Zoonoses na segurança alimentar. *Segurança e Qualidade Alimentar*, 2, 14-17.
- Sá, J. e Magalhães, A. (2009). Referencial de certificação para a segurança alimentar. *Revista ingenium*, ii série, 111, 30-31.
- Santos, M.I. (2009). *Estimativa da flora microbiana e eventuais patogénicos em saladas*

- minimamente processadas (MP) prontas para consumo* (Dissertação de Mestrado). Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Portugal.
- Santos, M.I. e Cunha, I. (2007). Patogénicos emergentes em alimentos. *Segurança e Qualidade Alimentar*, 1(2), 10-14.
- Santos, M.I., Correia, C., Cunha, M.I.C., Saraiva, M.M., Novais, M.R. (2005). Valores Guia para Avaliação da Qualidade Microbiológica de Alimentos Prontos a Comer Preparados em Estabelecimentos de Restauração. *Revista da Ordem dos Farmacêuticos*, 64, 66 – 8.
- Scallan, E., Hoekstra, R.M., Angulo, F.J., Tauxe, R.V., Widdowson, M., Roy, S.L., Jones, J.L. e Griffi, P.M. (2011). Foodborne Illness Acquired in the United States—Major Pathogens. *Emerging Infectious Diseases*, 17(1), 7-15.
- Silveira, L., Marque, A. e Machado, J. (2013a). Infecções por *Salmonella* entérica no período entre 2000-2012. *Observações, Boletim Epidemiológico*, 2(1), 14-16. [Consultado em 24 de outubro de 2014]. Disponível em: <http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/PublicacoesRepositorio/Documents/observa%C3%A7%C3%B5es%20N%C2%BA%20Especial%201%202013.artigo6>
- Silveira, L., Marque, A. & Machado, J. (2013b). Patotipos de *Escherichia coli* associados a infecções entéricas entre 2002-2012, 2(1), 20-22. [Consultado em 24 de outubro de 2014]. Disponível em: <http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/PublicacoesRepositorio/Paginas/ObservacoesVol2Numeroespecial1.aspx>
- Soares, E. (2007). Doenças de Origem Alimentar – Infecções e Intoxicações. *Revista Segurança e Qualidade Alimentar*, 1(2), 6-8.
- Soriano, J. M., Font, G., Molto, J. C., & Manes, J. (2002). Enterotoxigenic staphylococci and their toxins in restaurant foods. *Trends in Food Science and Technology*, 13 (2), 60–67.
- Sospedra, I., Rubert, J., Soriano, J.M. e Mañes, J. (2013). Survey of microbial quality of plant-based foods served in restaurants. *Food Control*, 30(2), 418-422. DOI: 10.1016/j.foodcont.2012.08.004
- Swaminathan, B., Cabanes, D., Zhang, W. e Cossart, P. (2007). *Listeria monocytogenes*. In Doyle, M.P. e Beuchat, L.R. (Ed.) *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers*, 249-69. Washington, EUA: ASM Press.

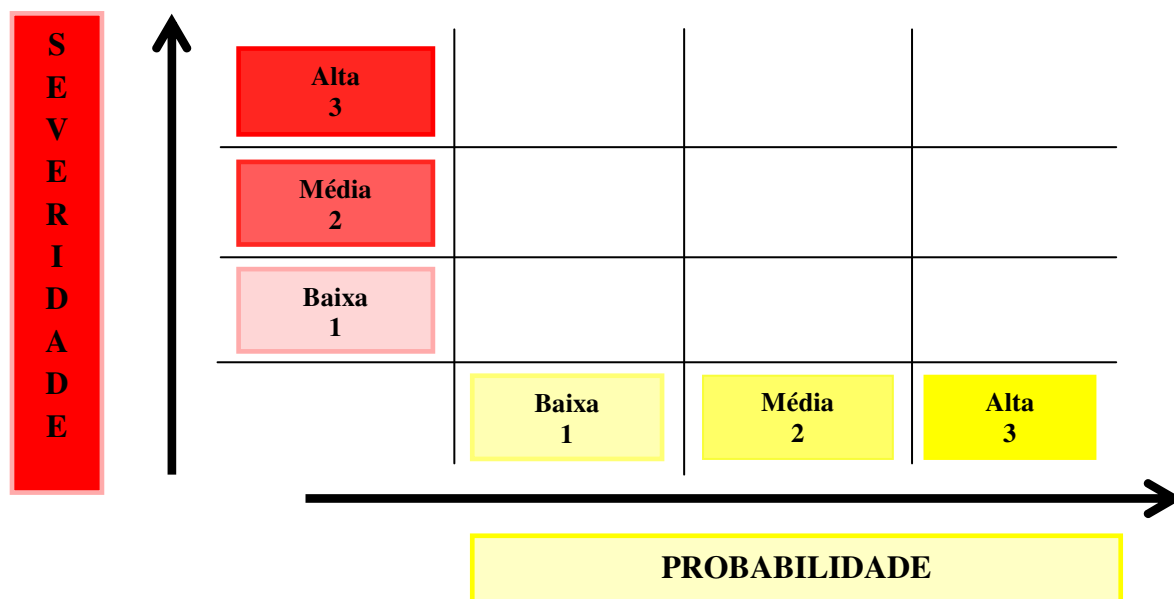
- Viana, V., Santos, P. L. e Guimarães, M. J. (2008). Comportamento e hábitos alimentares em crianças e jovens: Uma revisão da literatura. *Psicologia, Saúde & Doenças*, 9 (2), 209-231.
- Vaz, A., Moreira, R., Hogg, T. (2000). Introdução ao HACCP. Associação para a Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica (AESBUC). [Consultado em 30 de outubro de 2013]. Disponível em: <http://www.esac.pt/noronha/manuais/manual%20HACCP%20spiral.pdf>.
- Viegas, S., Cunha, I., Correia, C., Coelho, A., Maia, C., Pena, C., Bonito, C., Sousa, I., Toscano, M., Furtado, R., Santos, S., Lopes, T. & Saraiva, M. (2014). Investigação laboratorial de toxinfecções alimentares, 2013. Boletim Epidemiológico Observações, 3(7):3-6. [Consultado em 20 de junho de 2014]. Disponível em: http://repositorio.insa.pt/retrieve/6660/observacoes_7_2014_artigo1.pdf
- Wong-González, E. (2008). Robustez del recuento total aeróbio al modificar la etapa de diluciones decimales. *Agronomía Mesoamericana*, 19 (2), 267-270.
- WHO (2002). Global Strategy for Food Safety: Safer Food for Better Health. *Food Safety Issues*, WHO, Geneva, Suíça.
- WHO (2003). The precautionary principle: protecting public health, the environment and the future of our children, 63-64. [Consultado em 05 de abril de 2013]. Disponível em: http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0003/91173/E83079.pdf
- WHO (2008). *Foodborne disease outbreaks: guidelines for investigation and control*. Geneva: World Health Organization.
- WHO (2009). *10 facts on food safety* [Consultado em: 15 de julho de 2013]. Disponível em: <http://www.who.int/features/factfiles/food.safety/en/index.html>
- WHO (2014) Foodborne Diseases. [Consultado em: 28 de fevereiro de 2014]. Disponível em http://www.who.int/topics/foodborne_diseases/en/
- WTO (2011). World Trade Organization. *The “Precautionary Principle”* (Cap. 8). [Consultado em: 03 de maio de 2013]. Disponível em: http://www.wto.org/english/tratop_e/sps_e/sps_agreement_cbt_e/c8s2p1_e.htm
- Zanussi Professional (s.d.). Higiene na Restauração e HACCP – Manual para uma correta prática de higiene na restauração.

ANEXOS

ANEXO 1

MATRIZ PARA AVALIAÇÃO DO NÍVEL DE RISCO

É uma ferramenta técnica para determinar se a probabilidade de ocorrência do perigo identificado é significativo, ou seja, qual a consequência para a saúde do consumidor.



	Média 3	Alta 6	ALTA 9
	Baixa 2	Média 4	Alta 6
	Baixa 1	Baixa 2	Média 3

Sempre que da avaliação de risco resultar num valor:

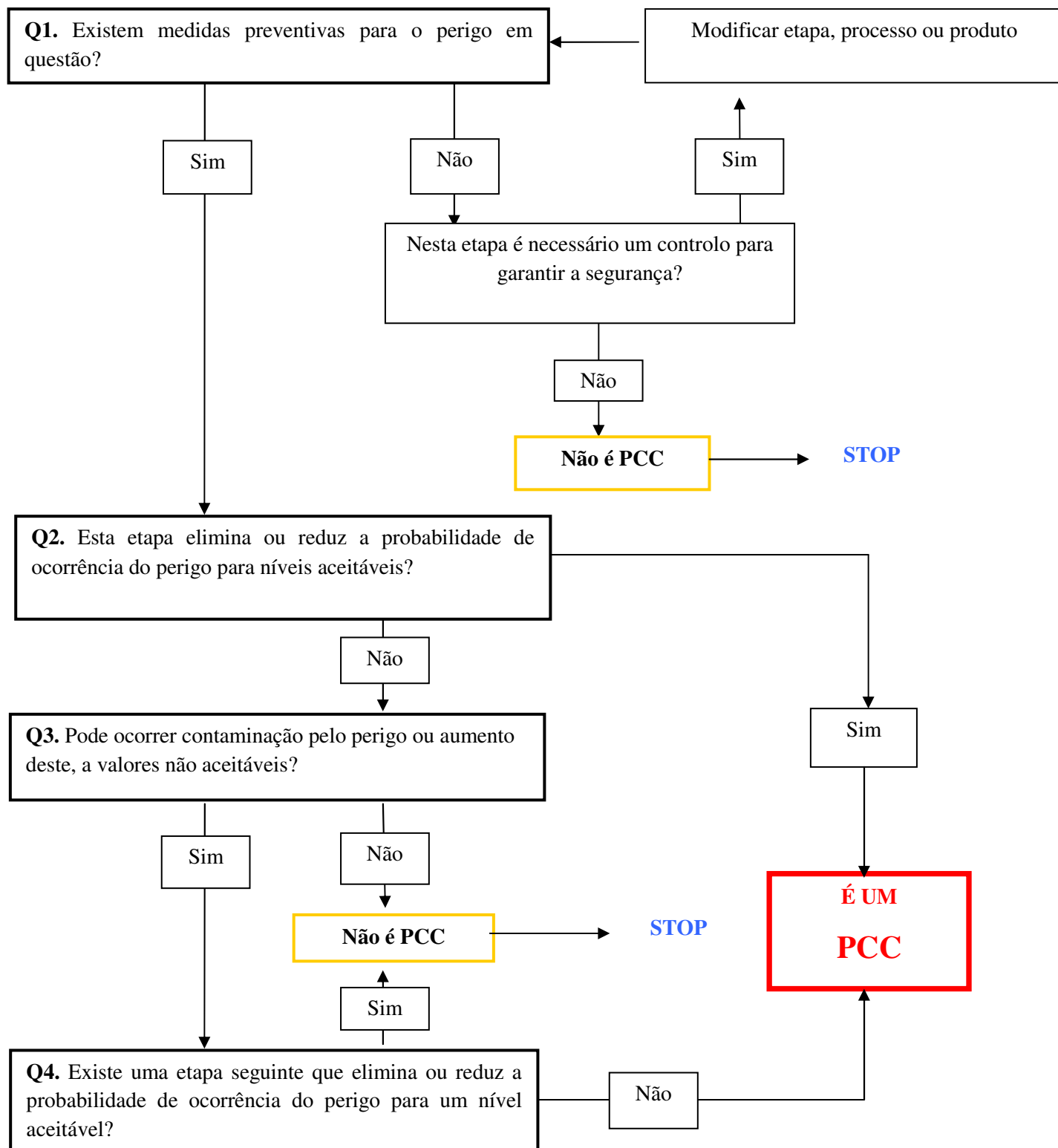
a) **Igual ou superior a 4**, a equipa HACCP leva o perigo identificado à árvore de decisão para determinar se este representa um Ponto Crítico de Controlo.

b) **Inferiores a 4**, os responsáveis cumprem as medidas preventivas aplicadas.

ANEXO 2

ÁRVORE DE DECISÃO

É uma ferramenta técnica para determinar se o perigo identificado, em cada etapa do fluxograma da empresa em estudo, é um PCC. Se verificar que é um PCC, deve seguir a metodologia da implementação do sistema HACCP.



ANEXO 3

VALORES GUIA PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE ALIMENTOS COZINHADOS PRONTOS A COMER

(Fonte: Santos et al., 2005)

Microrganismos	Grupo de alimentos	Qualidade Microbiológica (ufc/g quando não indicado)			
		Satisfatório	Aceitável	Não Satisfatório	Inaceitável / potencialmente perigosos
Microrganismos a 30°C	1	$\leq 10^2$	$>10^2 \leq 10^4$	$>10^4$	NA
	2	$\leq 10^3$	$>10^3 \leq 10^5$	$>10^5$	NA
	3	$\leq 10^4$	$>10^4 \leq 10^6$	$>10^6$	NA
<i>Escherichia Coli</i>	1,2	<10	NA	≥ 10	NA
	3	≤ 10	$>10 \leq 10^2$	$\geq 10^2$	NA
Patogênicos					
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	1,2 e 3	$<10^2$	NA	$\geq 10^2 \leq 10^4$	$>10^4$
<i>Salmonella</i> spp.	1,2 e 3	Ausente em 25 g			Presente em 25 g
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,2 e 3	Ausente em 25 g	Presente em 25 g $<10^2$ #	–	$>10^2$

- Equacionado caso a caso

NA – Não Aplicável

ufc/g – unidade formadora de colônia / grama de alimento